

SKRIPSI

**PENGARUH PENAMBAHAN NATRIUM NITRAT (NaNO_3) TERHADAP
KANDUNGAN LUTEIN PADA MIKROALGA
*Botryococcus braunii***



Oleh :

MUHAMMAD AINUN NAIM
GRESIK – JAWA TIMUR

**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2016**

Surat Pernyataan Keaslian Karya Tulis Skripsi

Yang bertanda tangan di bawah ini :

N a m a : Muhammad Ainun Naim

N I M : 141111044

Tempat, tanggal lahir : Gresik, 10 September 1992

Alamat : Dsn. Balongmojo Krajan RT01/RW02, Ds. Balongmojo, Kec. Benjeng,
Gresik.

Telp./HP 085607412736

Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Natrium Nitrat (NaNO_3) terhadap Kandungan
Lutein pada Mikroalga *Botryococcus braunii*

Pembimbing : 1. Sudarno, Ir., M.Kes.
2. Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M.Agr.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa hasil tulisan laporan Skripsi yang saya buat adalah murni hasil karya saya sendiri (bukan plagiat) yang berasal dari Dana Penelitian : Mandiri / Proyek-Dosen / Hibah / PKM.

Di dalam skripsi / karya tulis ini tidak terdapat keseluruhan atau sebagian tulisan atau gagasan orang lain yang saya ambil dengan cara menyalin atau meniru dalam bentuk rangkaian kalimat atau simbol yang saya aku seolah-olah sebagai tulisan saya sendiri tanpa memberikan pengakuan pada penulis aslinya, serta kami bersedia :

1. Dipublikasikan dalam Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga;
2. Memberikan ijin untuk mengganti susunan penulis pada hasil tulisan skripsi / karya tulis saya ini sesuai dengan peranan pembimbing skripsi;
3. Diberikan sanksi akademik yang berlaku di Universitas Airlangga, termasuk pencabutan gelar kesarjanaan yang telah saya peroleh (sebagaimana diatur di dalam Pedoman Pendidikan Unair 2010/2011 Bab. XI pasal 38 – 42), apabila dikemudian hari terbukti bahwa saya ternyata melakukan tindakan menyalin atau meniru tulisan orang lain yang seolah-olah hasil pemikiran saya sendiri

Demikian surat pernyataan yang saya buat ini tanpa ada unsur paksaan dari siapapun dan dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 16 Februari 2016
Yang membuat pernyataan,



Muhammad Ainun Naim
NIM. 141111044

SKRIPSI

PENGARUH PENAMBAHAN NATRIUM NITRAT (NaNO_3) TERHADAP KANDUNGAN LUTEIN PADA MIKROALGA *Botryococcus braunii*

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Perikanan pada Progam Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan
Kelautan Universitas Airlangga**

Oleh :

MUHAMMAD AINUN NAIM
NIM. 141111044

Menyetujui,

Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama



Sudarno, Ir., M.Kes.
NIP.19550713 198601 1 001

Pembimbing Serta



Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M.Agr.
NIP. 19580916 198502 1 001

SKRIPSI

PENGARUH PENAMBAHAN NATRIUM NITRAT (NaNO_3) TERHADAP KANDUNGAN LUTEIN PADA MIKROALGA *Botryococcus braunii*

Oleh :

MUHAMMAD AINUN NAIM
NIM. 141111044

Telah diujikan Pada
Tanggal: 11 Februari 2016

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si
Anggota : Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP
Dr. Rosmanida, M.Kes
Sudarno, Ir., M.Kes
Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M.Agr

Surabaya, 17 Februari 2016
Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Airlangga
Dekan



Dr. Mirni Lamid, drh., MP.
NIP. 19620116 199203 2 001

RINGKASAN

MUHAMMAD AINUN NAIM. Pengaruh Penambahan Natrium Nitrat (NaNO_3) Terhadap Kandungan Lutein Pada Mikroalga *Botryococcus braunii*. Dosen Pembimbing : Sudarno, Ir., M.Kes dan Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M.Agr.

Lutein merupakan jenis karotenoid yang dikenal sebagai nutrisi pelindung mata karena keberadaanya pada dua jaringan penting dalam penglihatan yaitu makula dan lensa. Lutein dalam jaringan tersebut dapat mencegah degenerasi makula mata (katarak) dan kerusakan retina akibat cahaya biru. Mikroalga *B. braunii* adalah salah satu yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber lutein. Kandungan lutein pada mikroalga dapat ditingkatkan dengan menambahkan nutrisi berupa nitrogen [dalam natrium nitrat (NaNO_3)] sebagai upaya memperbanyak produksi asam piruvat (bahan dasar biosintesis karotenoid).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan natrium nitrat terhadap kandungan lutein *B. braunii*. Metode penelitian adalah eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai rancangan percobaan. Perlakuan yang digunakan adalah media dengan penambahan NaNO_3 yang berbeda, yaitu A (0 g/L), B (0,5 g/L), C (1 g/L), D (1,5 g/L), dan E (2 g/L) masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Parameter utama yang diamati adalah kandungan lutein *B. braunii*. Parameter pendukung yang diamati adalah pertumbuhan *B. braunii* dan kualitas air yang terdiri dari suhu, pH, salinitas, dan DO. Analisis data menggunakan Uji Anava dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan NaNO_3 dalam media kultur mikroalga *B. braunii* berpengaruh terhadap kandungan lutein pada hari ke-2, ke-4 dan ke-8 ($p < 0,05$), sedangkan hari ke-6, ke-10 dan ke-12 tidak berpengaruh ($p > 0,05$) terhadap penambahan NaNO_3 . Perlakuan C (penambahan NaNO_3 0,5 gram) memiliki jumlah kandungan lutein tertinggi pada hari ke-8 sebesar 0,002306 $\mu\text{g/g}$. Perlakuan B (penambahan NaNO_3 0,25 gram) memiliki jumlah lutein terendah yaitu sebesar 0,000299 $\mu\text{g/g}$ pada hari ke-12.

SUMMARY

MUHAMMAD AINUN NAIM. Effect of Addition Natrium Nitrate (NaNO_3) on Lutein Content in Microalgae *Botryococcus braunii*. Academic Advisor : Sudarno, Ir., Kes and Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M.Agr

Lutein is a carotenoid that is known as protective nutrients eye because of its presence in the two important tissue vision that are macula and lens. Lutein in the tissue can prevent macular degeneration of the eye (cataracts) and retina damage as a result blue light. *Botryococcus braunii* is one of microalgae that has the potential to be developed as a source of lutein. The content of lutein in microalgae will increase with addition nutrient like a nitrogen [in sodium nitrate (NaNO_3)] as to increase production piruvat acid (main of carotenoid biosynthesis).

The aim of this study is to determine the effect of adding sodium nitrate to the lutein content of *B. braunii*. The research method was experimentally with *Completely Randomized Design* as the experimental design. The treatments used medium with the different addition of NaNO_3 , that is A (0 g/L), B (0,5 g/L), C (1 g/L), D (1,5 g/L), and E (2 g/L), each treatment was repeated 4 times. The main parameters measured were lutein content of *B. braunii*. Parameters measured were supporters are growth of *B. braunii* and water quality consisting of temperature, pH and DO. Analysis of data using Anova Test followed by *Duncan's Multiple Range Test*.

The results showed that the addition of NaNO_3 in the culture medium *B. braunii* microalgae affect the content of lutein on day 2, day 4 and on day 8 ($p < 0,05$), whereas on day 6, day 10 and on day 12 not affect on addition of NaNO_3 ($P < 0.05$). Ttreatment C (addition of 0,5 grams NaNO_3) has the highest amount of lutein at day 8 of 0,002306 $\mu\text{g/g}$. Treatment B (addition of 0,25 g/L NaNO_3) has the lowest amount of lutein in the amount of 0,000299 $\mu\text{g/g}$ on day 12.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga Skripsi tentang “Pengaruh Penambahan Natrium Nitrat (NaNO_3) Terhadap Kandungan Lutein Pada Mikroalga *Botryococcus braunii*” dapat diselesaikan. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini, tidak lupa pula penulis haturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada: ¹⁾ Bapak Sudarno, Ir., M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Pertama dan Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M.Agr. selaku Dosen Pembimbing Kedua yang telah memberikan arahan, petunjuk dan bimbingan sejak penyusunan Usulan Penelitian hingga selesainya penyusunan Skripsi ini, ²⁾ Ibu Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si., Ibu Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP dan Dr. Rosmanida, M.Kes. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan dan saran atas perbaikan Skripsi ini, ³⁾ orang tua yang tidak henti memberi dukungan baik materi maupun moral, serta ⁴⁾ semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan maupun penyelesaian Skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak.

Surabaya, 27 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
RINGKASAN	iv
SUMMARY	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 <i>Botryococcus braunii</i>	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	4
2.1.2 Habitat <i>Botryococcus braunii</i>	5
2.1.3 Reproduksi dan Pertumbuhan <i>Botryococcus braunii</i>	6
2.1.4 Faktor-Faktor yang Berpengaruh Terhadap Kandungan Lutein Mikroalga <i>Botryococcus braunii</i>	7
A. Faktor Nutrisi	7
B. Faktor Lingkungan	8
2.2 Lutein	9
2.2.1 Pengertian Lutein	9
2.2.2 Proses Pembentukan Lutein	9

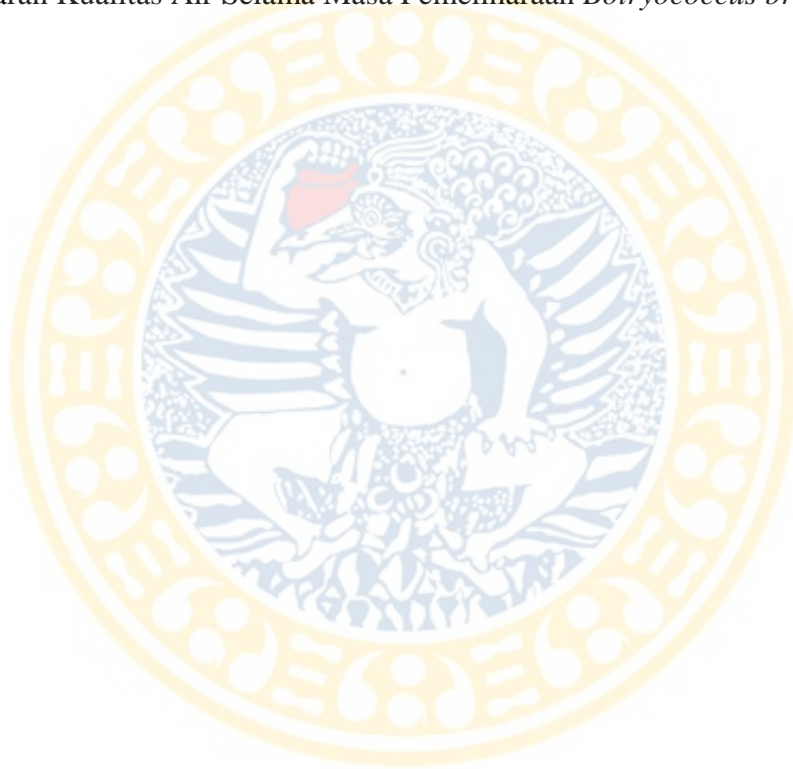
2.2.3 Manfaat Lutein	11
2.3 Natrium Nitrat (NaNO_3)	11
BAB III KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS	13
3.1 Kerangka Konseptual	13
3.2 Hipotesis	16
BAB IV METODOLOGI.....	17
4.1 Tempat dan Waktu.....	17
4.2 Materi Penelitian.....	17
4.2.1 Peralatan Penelitian.....	17
4.2.2 Bahan Peneltian.....	17
4.3 Metode Penelitian.....	18
4.3.1 Rancangan Peneltian	18
4.3.2 Prosedur Kerja.....	19
A. Persiapan Penelitian	19
B. Strelirilasi Peralatan dan Bahan	19
C. Penanaman Bibit <i>B. braunii</i>	20
D. Penghitungan Populasi <i>B. braunii</i>	21
E. Penghitungan Lutein <i>B. braunii</i>	21
F. Pengukuran Kualitas Air	23
4.3.3 Parameter.....	23
A. Parameter Utama	23
B. Parameter Pendukung	23
4.3.4 Analisis Data	23
4.3.5 Diagram Alur Penelitian	24
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
5.1 Hasil.....	25
5.1.1 Pengaruh Konsentrasi Natrium Nitrat (NaNO_3) terhadap Kandungan Lutein <i>B. braunii</i>	25
5.1.2 Pertumbuhan <i>B. braunii</i>	27
5.1.3 Kualitas Air	30
5.2 Pembahasan	31
5.2.1 Pengaruh Konsentrasi Natrium Nitrat (NaNO_3) terhadap Kandungan Lutein <i>B. braunii</i>	31
5.2.2 Pertumbuhan Lutein <i>B. braunii</i>	33
5.2.3 Kualitas Air	35
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	37

6.1 Simpulan.....	37
6.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	44



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Denah Penempatan Pada Perlakuan RAL	19
2. Rata-rata Kandungan Lutein <i>Botryococcus braunii</i> yang Dikultur dengan Penambahan Pupuk NaNO_3 yang Berbeda	27
3. Data Populasi Kepadatan <i>Botryococcus braunii</i> ($\times 10^4$ sel/ml)	29
4. Kisaran Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan <i>Botryococcus braunii</i>	30

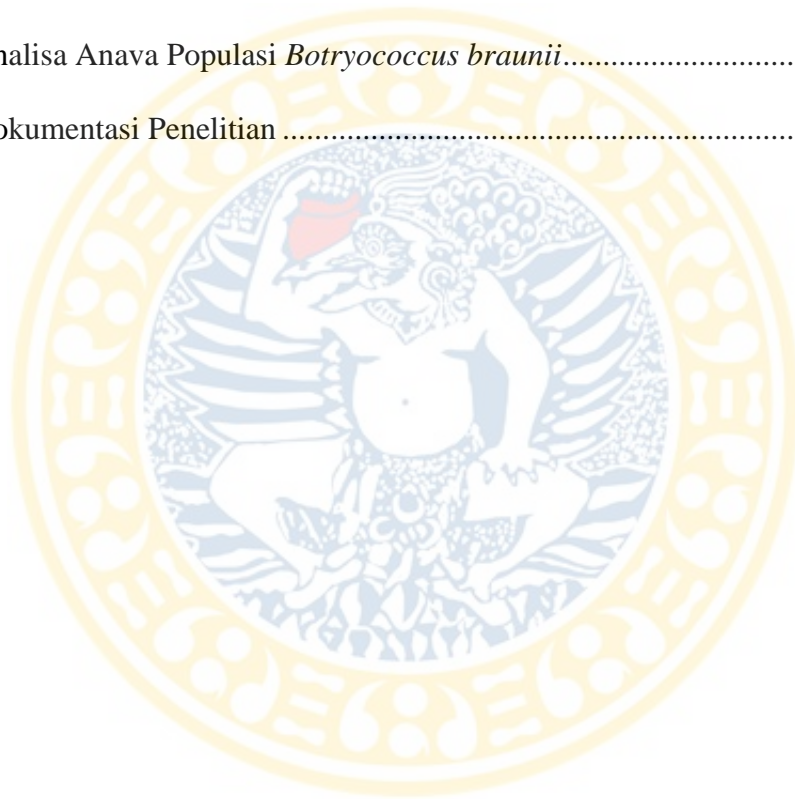


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>B. braunii</i>	5
2. Fase Pertumbuhan Fitoplankton.....	7
3. Struktur Kimia Lutein	9
4. Skema Biosintesis Karotenoid pada Mikroalga	10
5. Kerangka Konsep Penelitian	15
6. Diagram Alur Penelitian	24
7. Grafik Rata-rata Kandungan Lutein <i>Botryococcus braunii</i> yang Dikultur dengan Penambahan Pupuk NaNO ₃ yang Berbeda.....	26
8. Grafik Rata-rata Pertumbuhan Populasi <i>Botryococcus braunii</i>	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Kandungan Lutein <i>Botryococcus braunii</i>	44
2. Data Pertumbuhan Populasi <i>Botryococcus braunii</i>	46
3. Data Rata-rata Kualitas Air.....	49
4. Analisa Anava Kandungan Lutein <i>Botryococcus braunii</i>	51
5. Analisa Anava Populasi <i>Botryococcus braunii</i>	53
6. Dokumentasi Penelitian	56



I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lutein merupakan salah satu jenis karotenoid alami (Kusmiati, 2010) yang termasuk golongan xantofil (Tanjung dan Sjarif, 2013). Karotenoid yang memiliki nama lain β , ϵ -Carotene- 3, 3' diol (El-Raey *et al.*, 2013) menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (2013) memiliki pigmen berwarna kuning dan berbentuk kristal.

Lutein dikenal sebagai nutrisi pelindung mata karena keberadaanya pada dua jaringan penting dalam penglihatan yaitu makula dan lensa. Lutein dan zeaxantin merupakan satu-satunya karotenoid yang ada dalam jaringan tersebut (Tanjung dan Sjarif, 2013). Menurut Kusmiati (2010), lutein dalam jaringan tersebut dapat mencegah degenerasi makula mata (katarak) dan kerusakan retina akibat cahaya biru yang berkaitan dengan proses terjadinya katarak pada mata. Fungsi lain dari pigmen ini sebagai anti penuaan dini pada kulit yang terkena radiasi sinar ultraviolet (UV) matahari, membantu melindungi kulit dari radiasi sinar UV sehingga digunakan sebagai bahan kosmetik, sebagai pewarna alami pada jaringan hewan maupun tumbuhan dan sebagai prekursor vitamin A.

Menurut Badan POM (2013), tubuh manusia tidak dapat mensintesis lutein, oleh karena itu kebutuhan lutein harus disuplai dari luar tubuh. Beberapa sumber lutein berasal dari makanan, seperti sayuran (tomat dan wortel), buah yang berwarna kekuningan, suplemen dan lain – lain. Menurut Fretes dkk. (2012) lutein juga dapat disintesis dari mikroalga.

Mikroalga yang mengandung karotenoid jenis lutein adalah *B. braunii*. Selain *B. braunii*, spesies mikroalga yang mengandung lutein adalah *Scenedesmus obliquus*, *Dunaliella parva*, *Dunaliella bardawil*, *Spongiococcum excentricum* dan *Chlorella pyrenoidosa* (Limantara dan Indriatmoko, 2012). Lutein pada *B. braunii* merupakan jenis karotenoid yang paling utama yaitu sebesar 22 - 29 % dari berat kering (Sharma *et al.*, 2011). Mikroalga jenis *B. braunii* relatif sedikit dipelajari hingga saat ini dari sudut pandang konsentrasi karotenoid (Muntean *et al.*, 2008).

Produksifitas karotenoid sendiri dapat dioptimalkan dengan memanipulasi kondisi lingkungan kultur mikroalga agar tidak sesuai dengan kondisi normalnya (Fretes dkk., 2012). Salah satu faktor yang dapat dijadikan cara untuk membuat mikroalga *B. braunii* mengalami hal tersebut adalah merubah komposisi nutrisi media kultur (Suryana dan Nurhadiati, 2008).

Salah satu unsur nutrisi yang dibutuhkan dalam media kultur adalah nitrogen. Nitrogen merupakan senyawa esensial sebagai *growth-associate factor* dan dibutuhkan untuk proses sintesis protein (Setyaningsih dkk., 2011). Penambahan nitrogen pada media kultur dapat meningkatkan pembentukan karotenoid (Venkatesan *et al.*, 2013). Salah satu sumber nitrogen dalam media kultur adalah nitrat (NO_3^-) (Setyaningsih dkk., 2011) yang terdapat pada NaNO_3 (International Plant Nutrition Institute (IPNI), 2010)

Hubungan antara keduanya, yaitu penambahan natrium nitrat dengan produksi lutein belum ada penelitian lebih lanjut. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh nutrisi dalam mempengaruhi

pembentukan lutein pada *B. braunii*, salah satunya dengan penambahan natrium nitrat (NaNO_3) dengan dosis yang berbeda. Dari penelitian ini akan didapatkan konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) terbaik dalam pembentukan lutein pada *B. braunii*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) yang berbeda berpengaruh terhadap kandungan lutein pada *B. braunii*?
2. Berapakah konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) terbaik dalam pembentukan lutein pada *B. braunii*?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) terhadap kandungan lutein *B. braunii*?
2. Mengetahui konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) terbaik dalam pembentukan lutein pada *B. braunii*?

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh penambahan konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) yang berbeda terhadap kandungan lutein pada *B. braunii*. Sehingga nantinya diharapkan diperoleh konsentrasi penambahan natrium nitrat (NaNO_3) terbaik dalam proses pembentukan lutein pada *B. braunii*.

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Botryococcus braunii*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

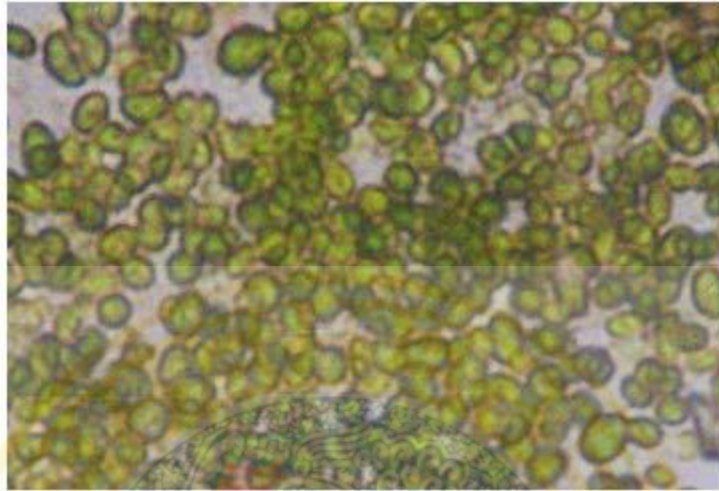
B. braunii merupakan salah satu mikroalga bersel tunggal yang banyak dijumpai di perairan danau, tambak atau perairan payau sampai laut (Metzger and Largeau, 2005). Adapun klasifikasi dari *B. braunii* menurut Kutzing (1849) sebagai berikut :

Divisio	: Chlorophyta
Class	: Chlorophyceae
Order	: Chlorococcales
Family	: Botryococcaceae
Genus	: <i>Botryococcus</i>
Species	: <i>Botryococcus braunii</i>

Mikroalga *B. braunii* memiliki sifat autotrof dan berbentuk seperti piramida (Venkatesan *et al.*, 2013) atau seperti bulat telur dengan ujung oval selnya berikatan pada matriks *mucilaginous* dan pada bagian ujung bulat merupakan ujung yang bebas dari koloni sel lainnya (Rai *et al.*, 2007). Secara umum mikroalga ini memiliki warna hijau sampai hijau kekuningan (Dayananda *et al.*, 2010). Memiliki ukuran sel 7 x 14 µm. Dinding sel *B. braunii* memiliki lapisan yang terbuat dari polisakarida (Banerjee *et al.*, 2002).

B. braunii merupakan jenis mikroalga yang bersifat koloni namun tidak bergerombol (Banerjee *et al.*, 2002). Menurut Rai *et al.* (2007), bentuk dari koloni tersebut tidak beraturan, dimana dalam satu koloni bisa terdapat antara 4 – 16 sel individu atau bahkan lebih yang diikat dengan selubung agar-agar. Antar koloni

tersebut sebagian besar akan bergabung menjadi lebih panjang. Gambar morfologi *B. braunii* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi *B. braunii*.
(Sumber: Dayananda *et al.*, 2007).

2.1.2 Habitat *Botryococcus braunii*

Mikroalga *B. braunii* dapat ditemukan di seluruh ekosistem perairan tawar, payau (Venkatesan *et al.*, 2013) sampai laut (Hadi, 2012). *B. braunii* dapat tumbuh pada perairan dengan kisaran salinitas 0 – 25 ppt (Susilowati dan Amini, 2009) hingga 30 ppt (Hadi, 2012). Mikroalga ini dapat hidup pada kisaran intensitas cahaya 2.500 lux (Agustini, 2014) hingga 10.000 lux (Sari dkk., 2013) dan suhu berkisar 25 - 30 °C (Hadi, 2012). Umumnya mikroalga tumbuh optimum pada kisaran pH 6 - 8 (Wijoseno, 2011).

Mikroalga *B. braunii* tumbuh optimum pada konsentrasi nutrisi pupuk walne 1 ml/l kultur (Sari dkk., 2013). Adapun komposisi pupuk walne adalah Na₂EDTA 45 g, NaH₂PO₄.H₂O 20 g, FeCl₃.6H₂O 1,5 g, H₃BO₃ 33,6 g, MnCl₂

0,36 g, NaNO₃ 100 g, *trace metal solution* 1 ml, vitamin ml, dan akuades 1 liter (Mamduh dkk.,2013).

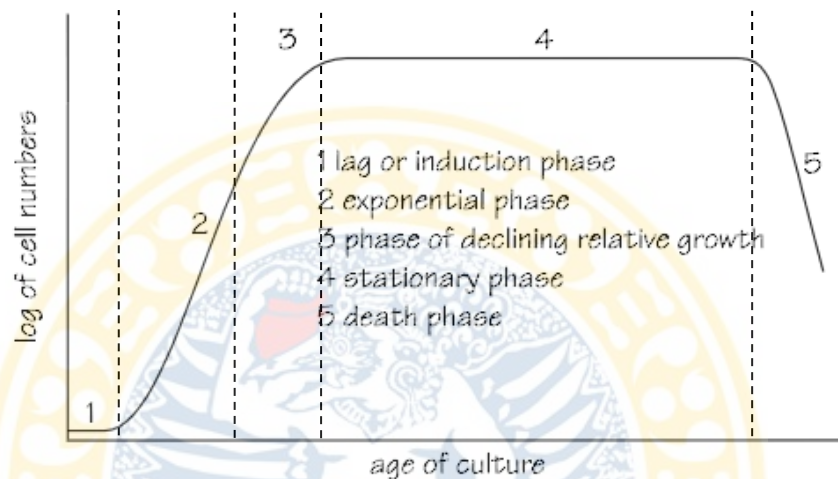
2.1.3 Reproduksi dan Pertumbuhan *Botryococcus braunii*

Proses reproduksi pada mikroalga *B. braunii* menurut Hirose *et al.* (2013) terjadi selama 48 jam dengan cara pembelahan autospore. Pada lima jam pertama sel mikroalga *B. braunii* mulai mengalami pembengkakan. Dalam pembengkakan sel tersebut tidak ada septum yang terlihat, hal ini menunjukkan bahwa pembelahan sel belum terjadi. Setelah 13 jam, septum mulai terlihat namun ukuran sel tidak bertambah. Sel mulai tampak membelah menjadi dua (autospore) setelah 21 jam dan setelah 48 jam sel tampak terpisah menjadi dua. Selain itu mikroalga *B. braunii* juga mengalami pertumbuhan. Proses pertumbuhan mikroalga mengalami beberapa fase Menurut Agustini (2014). Gambar pola pertumbuhan (fase) mikroalga dapat dilihat pada Gambar 2.

Pertumbuhan *B. braunii* pada fase lag merupakan bentuk adaptasi terhadap lingkungannya dan pada fase ini peningkatan pertumbuhan mikroalga sangat kecil (Agustini, 2014). Menurut Pujiono (2006), apabila mikroalga kekurangan nutrisi pada media kulturnya, maka waktu fase lag akan lebih lama. Mikroalga kemudian mengalami fase logaritmik yang ditandai dengan peningkatan pertumbuhan yang signifikan. Pertumbuhan tersebut terhenti secara perlahan pada fase linier (Agustini, 2014).

Fase stasioner terjadi dimana laju pertumbuhan dan laju kematian seimbang (Agustini, 2014). Penambahan dan pengurangan jumlah sel relatif sama, sehingga kepadatan tetap (Hidayah, 2013). Hingga akhirnya mikroalga mengalami

fase kematian yang ditandai dengan kepadatan populasi yang terus berkurang (Agustini, 2014). Menurut Hidayah (2013), penurunan kepadatan ditandai dengan perubahan kondisi optimum media kultur, yang dikarenakan perubahan faktor lingkungan dan nutrisi.



Gambar 2. Fase Pertumbuhan Fitoplankton

(Sumber : Coutteau, 1996).

Keterangan:

1. Fase lag
2. Fase logaritmik/eksponensial
3. Fase linier
4. Fase stasioner
5. Fase kematian

2.1.4 Faktor-Faktor yang Berpengaruh Terhadap Kandungan Lutein

Mikroalga *Botryococcus braunii*

A. Faktor Nutrisi

Kebutuhan unsur hara bagi kehidupan alga secara garis besar terbagi menjadi dua, yaitu unsur hara makro dan unsur hara mikro. Unsur hara makro terdiri dari nitrogen (N), posfor (P), kalium (K), sulfur (S), natrium (Na), silikon

(Si) dan kalsium (Ca). Unsur hara mikro terdiri dari besi (Fe), seng (Zn), mangan (Mn), tembaga (Cu), magnesium (Mg), molibdenum (Mo), kobalt (Co) dan boron (B) (Hidayah, 2013). Unsur unsur makro maupun mikro biasanya diberikan dalam bentuk senyawa. Unsur makro adalah unsur hara yang diperlukan tanaman dalam yang relatif banyak. Unsur mikro adalah unsur hara yang diperlukan tanaman dalam yang relatif sedikit (Wijoseno, 2011). Komposisi nutrisi yang lengkap antara unsur makro dan mikro serta konsentrasi nutrisi yang tepat akan menentukan tingkat produksi biomassa dan kandungan gizi mikroalga (Amanatin dan Tutik, 2013).

B. Faktor Lingkungan

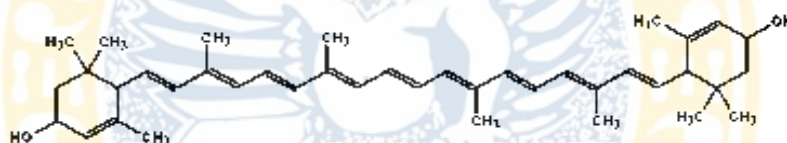
Peningkatan produktivitas kultur *B. braunii* dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan antara lain pH, suhu, cahaya, salinitas, kadar CO₂, (Banerjee *et al.*, 2002) dan O₂ (Inthe, 2012). Pada kondisi lingkungan yang sesuai, mikroalga dapat tumbuh dengan sangat cepat (Handayani dan Ariyanti, 2012).

Aktivitas mikroalga dapat dipengaruhi oleh pH karena aktivitas enzim mikroalga tergantung kepada keberadaan ion H⁺. Faktor lingkungan pH memiliki peran dalam mengatur kerja enzim (Wijoseno, 2011). Faktor lingkungan lainnya seperti intensitas cahaya yang akan mempengaruhi proses fotosintesis, suhu akan berpengaruh secara langsung pada proses metabolisme dan salinitas memiliki peran dalam aktivitas osmosis pada mikroalga (Hidayah, 2013).

2.2 Lutein

2.2.1 Pengertian Lutein

Lutein adalah suatu karotenoid, yang berarti pewarna alami atau pigmen berwarna kuning (Kusmiati, 2010). Menurut Kusmiati dkk. (2010), senyawa lutein memiliki nama lain Luteine; trans-lutein dan β , ϵ -Carotene- 3, 3' diol yang memiliki rumus $C_{40} H_{56} O_2$. Struktur kimia lutein dapat dilihat pada Gambar 3. Berat molekul lutein yaitu 568,871 g/mol, berbentuk padat kristal berwarna merah-orange, bersifat larut dalam lemak dan pelarut organik, tidak larut dalam air dan lebih larut dalam metanol panas (1:700). Lutein termasuk golongan xantofil dari karotenoid yang larut dalam lemak (Tanjung dan Sjarif, 2013).



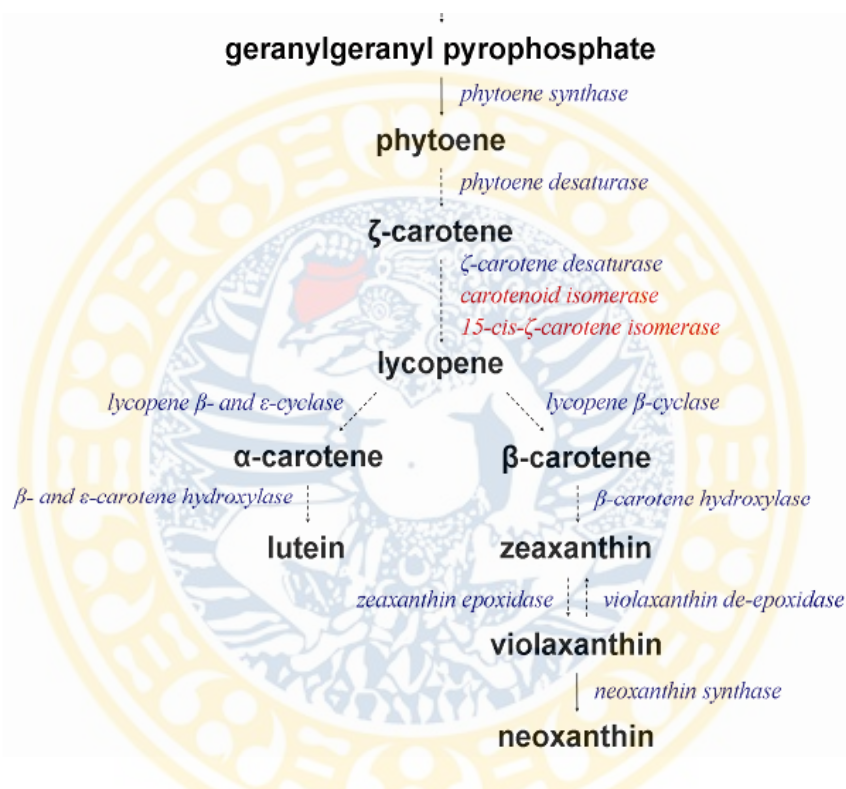
Gambar 3. Struktur kimia Lutein
(Sumber : Kusmiati dkk., 2010).

Lutein merupakan karotenoid yang tidak dapat disintesa oleh manusia sehingga harus diperoleh melalui makanan yang dikonsumsi (Kusmiati, 2010). Menurut Sommerburg *et al.* (1998), lutein terdapat pada sayuran dan buah seperti jagung, bayam, kiwi, labu, jeruk, tomat, timun, kacang polong, buncis, melon, brokoli dan anggur.

2.2.2 Proses Pembentukan Lutein

Jalur biosintesis karotenoid pada umumnya sama dengan semua jenis isoprenoid, yakni diawali dengan isomerasi IPP (*isopentenil pirofosfat*) (Misawa, 1995). IPP dibentuk di dalam plastid melalui jalur plastidial 2-C-metil-D-

erythritol-4-fosfat (MEP). Jalur MEP kemudian mengalami tiga reaksi kondensasi secara berturut-turut yang dikatalisasi oleh *prenyltransferases* untuk membentuk *geranylgeranyl difosfat* (GGPP). GGPP merupakan prekursor dari semua karotenoid (Ramos *et al.*, 2011). Skema biosintesis lutein dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema Biosintesis Karotenoid pada Mikroalga
(Sumber : Lamers, 2011).

GGPP kemudian mengalami kondensasi untuk membentuk *phytoene* dengan bantuan *phytoene synthase* (PSY). *Phytoene* mengalami empat reaksi desaturasi oleh *phytoene desaturase* (PDS) dan *zeta-carotene desaturase* (ZDS) untuk menghasilkan *tetra-cis-lycopene*. *Tetra-cis-lycopene* berisomerasi dengan *carotenoid isomerase* (CRTISO) untuk memproduksi *all-trans-lycopene*. *Lycopene* kemudian mengalami dua siklase yaitu oleh enzim *beta-cyclase* (βLCY)

untuk menghasilkan beta-karoten dan oleh enzim β LCY yang ditambah dengan enzim *gamma-cyclase* (γ LCY) untuk menghasilkan alfa-karoten. Alfa karoten dihidroksilasi oleh *beta* dan *alfa hydroxylases* (β OH, α OH) untuk menghasilkan lutein (Cuttriss and Pogson, 2013).

2.2.3 Manfaat Lutein

Lutein merupakan salah satu karotenoid yang terdapat dalam makula mata manusia selain zeaxantin. Lutein berfungsi menyaring sinar UV yang masuk ke mata (Batista, *et al.*, 2006). Hal tersebut dapat mencegah katarak pada nukleus mata (Tanjung dan Sjarif, 2013).

Menurut Kusmiati (2010), lutein mampu menginaktivasi reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Penghambatan reaksi oksidasi dilakukan dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif sehingga mencegah kerusakan sel. Fungsi lain dari lutein sebagai anti penuaan dini (*antiaging*) pada kulit yang terkena radiasi sinar UV matahari, membantu melindungi kulit dari radiasi sinar UV sehingga digunakan sebagai bahan kosmetik, sebagai pewarna alami pada jaringan hewan maupun tumbuhan dan sebagai prekursor vitamin A. Menurut Limantara dan Indriatmoko (2012), lutein berperan menghambat perkembangan sel kanker, dalam hal ini kanker prostat.

2.3 Natrium Nitrat (NaNO_3)

Natrium nitrat atau sodium nitrat merupakan senyawa kimia yang memiliki rumus molekul NaNO_3 (IPNI, 2010). Menurut *Material Safety Data*

Sheet (MSDS) (2009), NaNO_3 berbentuk kristal, berwarna putih, memiliki pH 5.5-8.0, larut dalam air dan memiliki berat molekul 84,99 serta density 900 g/l.

Menurut IPNI (2010), pada NaNO_3 terdapat kandungan nitrat sebesar 16 %. Nitrat biasa digunakan sebagai sumber nitrogen pada kultur mikroalga (Setyaningsih dkk., 2011). Nitrogen merupakan salah satu unsur kimia penting, baik untuk protein maupun DNA. Untuk memenuhi kebutuhan nitrogen, mikroalga bisa mendapatkan dari ion ammonium atau ion nitrat. Jika mikroalga menggunakan nitrat dalam memenuhi kebutuhan akan sumber nitrogen utama, maka pH kultur akan meningkat (basa) (Ernest, 2012). Meningkatnya konsentrasi nitrogen dalam media kultur dapat menyebabkan peningkatan pembentukan protein yang akan berdampak pada peningkatan kepadatan populasi mikroalga tersebut (Inthe, 2012).

III KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual

Lutein merupakan salah satu jenis karotenoid alami (Kusmiati, 2010) yang terdapat dalam makula mata manusia selain zeaxantin. Berungsi untuk menyaring sinar UV yang dapat merusak makula mata (Batista, *et al.*, 2006). Aktivitas antioksidan untuk melindungi retina luar mata dari cahaya yang disebabkan radikal bebas (Sasaki, *et al.*, 2011). Lutein dapat menstimulasi respon imun dan menghambat arterosklerosis (Kim *et al.*, 2000).

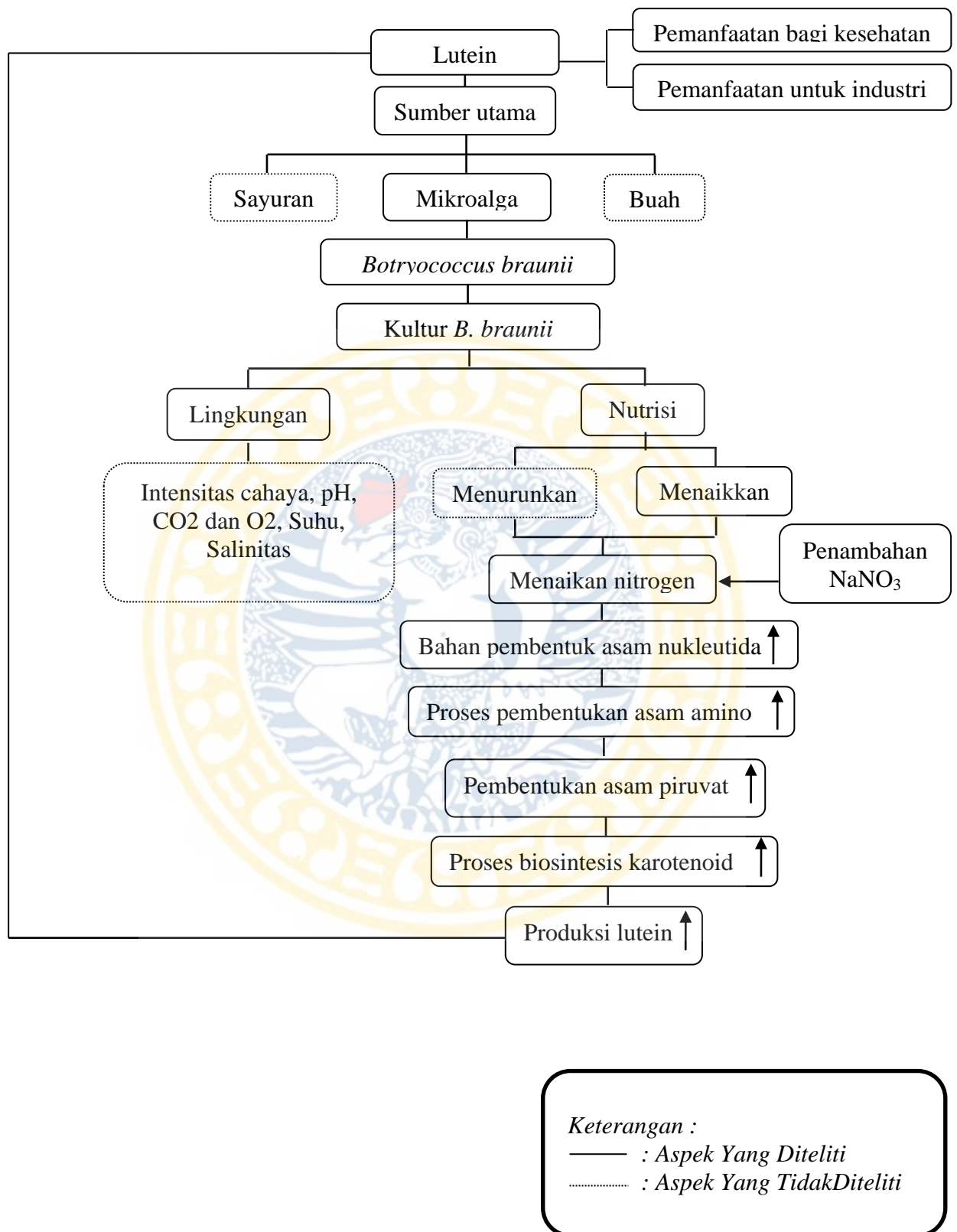
Lutein tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia sehingga harus diperoleh melalui makanan, seperti buah dan sayur (Kusmiati, 2010). Oleh sebab itu, lutein saat ini juga telah menjadi salah satu zat yang dimasukkan ke dalam komposisi makanan yang bermanfaat sebagai suplemen (BPOM, 2008).

Spesies mikroalga yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber lutein adalah *B. braunii*. Menurut Rao *et al.* (2006), *B. braunii* merupakan salah satu jenis mikroalga yang memiliki karotenoid utama berupa lutein. Selain lutein, dalam mikroalga ini juga terdapat karotenoid lain seperti violaxanthin, astaxanthin dan zeaxanthin serta ada juga pigmen klorofil a dan klorofil b.

Pada biosintesis lutein, phytoene yang dibentuk oleh kondensasi *geranylgeranyl difosfat* (GGPP) oleh *phytoene synthase* (PSY). *Phytoene* mengalami empat reaksi desaturasi oleh *phytoene desaturase* (PDS) dan *zeta-karoten desaturase* (ZDS) untuk menghasilkan *tetra-cis-lycopene*. *Tetra-cis-lycopene* kemudian berisomerasi dengan *carotenoid isomerase* (CRTISO) untuk menghasilkan *all-trans-lycopene*. *Lycopene* mengalami dua siklus, pertama oleh

beta-cyclase (β LCY) untuk menghasilkan beta-karoten dan oleh β LCY beserta dengan *gamma-cyclase* (γ LCY) untuk menghasilkan alfa-karoten. Alfa-karoten kemudian dihidroksilasi oleh *beta* dan *alfa hydroxylases* (β OH, α OH) untuk menghasilkan lutein (Cuttriss and Pogson, 2004).

Menurut Venkatesan *et al.* (2013) untuk meningkatkan jumlah karotenoid dapat dilakukan dengan menambahkan nitrogen dalam media kultur. Salah satu sumber nitrogen dalam media kultur adalah nitrat (NO_3^-) (Setyaningsih dkk., 2011) yang dapat diperoleh dari NaNO_3 (IPNI, 2010). Penambahan nitrat sebagai sumber nitrogen tentunya akan mengakibatkan meningkatnya biosintesis protein. Hal tersebut dikarenakan nitrogen merupakan bahan pembentuk asam nukleat. Didalam asam nukleat terjadi pembentukan asam-asam amino (unit terkecil protein) yang nantinya kumpulan dari beberapa asam amino tersebut akan membentuk asam piruvat. Asam piruvat merupakan bahan utama pensintesis IPP (Ngili, 2010). IPP tersebut nantinya akan digunakan untuk biosintesis karotenoid (Misawa, 1995). Skema kerangka konsep penelitian ini dapat dilihat pada Gambar. 5.



Gambar 5. Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Hipotesis

- H1 : 1. Terdapat perbedaan antara perlakuan penambahan konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) yang berbeda terhadap kandungan lutein *B. braunii*.
2. Diperoleh konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) optimal untuk mendapatkan kandungan lutein *B. braunii* yang paling baik.



IV. METODOLOGI

4.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Pendidikan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya mulai Bulan Agustus – Oktober 2015.

4.2 Materi Penelitian

4.2.1 Peralatan penelitian

Peralatan yang akan digunakan untuk penelitian ini antara lain autoclave, botol kaca, aerator, selang aerasi, pipet ukur, pipet tetes, gelas ukur, spuit, *haemocytometer*, *cover glass*, mikroskop, *refraktometer*, pH pen, DO meter, lampu TL 40 watt, rak kultur, *hand counter*, *plastic polybag* hitam, styrofoam, karet, kabel, *thermometer*, terminal listrik, gunting, tabung reaksi, *water bath*, rak tabung, timbangan analitik, sentrifuge, *heater*, vortex, dan spektrofotometer.

4.2.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah inokulan *B. braunii*, pupuk walne dan vitamin B₁₂ yang berasal dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPAP) Situbondo Jawa Timur. Bahan lain juga diperlukan dalam penelitian ini, seperti ketersediaan air tawar, air laut, lakban, benang bol, koran atau kertas bungkus, aluminium foil, kain kasa, kapas, alkohol 70%, NaOH 50%, sabun, tisu, aquades, kertas label, klorin, Na-thiosulfat, heksan, etanol, isopropanol.

4.3 Metode Penelitian

4.3.1 Rancangan penelitian

Menurut Kusriningrum (2012), rancangan penelitian merupakan seperangkat aturan yang dipakai untuk mengambil contoh dari populasi yang diteliti, supaya diperoleh jawaban dari suatu permasalahan dengan tepat dan teliti sesuai dengan biaya dan tenaga yang tersedia. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai rancangan percobaan. RAL digunakan bila media atau bahan percobaan seragam atau yang dianggap seragam dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan jika terdapat perbedaan yang nyata.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan lima perlakuan dengan empat ulangan, sehingga terdapat 20 satuan percobaan. Adapun lima perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

- A. Media kultur tanpa penambahan natrium nitrat (kontrol)
- B. Media kultur dengan penambahan natrium nitrat sebanyak 0,5 g/L
- C. Media kultur dengan penambahan natrium nitrat sebanyak 1 g/L
- D. Media kultur dengan penambahan natrium nitrat sebanyak 1,5 g/L
- E. Media kultur dengan penambahan natrium nitrat sebanyak 2 g/L

Variabel eksperimental dalam penelitian meliputi variabel bebas, tergantung dan variabel kendali. Variabel eksperimental dalam penelitian ini yaitu:

1. Variabel bebas = penambahan pupuk natrium nitrat (NaNO_3).
2. Variabel terikat = Pertumbuhan dan kandungan lutein *B. braunii*.
3. Variabel kontrol = vitamin B₁₂, pupuk, salinitas, cahaya dan bibit *B. braunii*.

Denah penempatan perlakuan pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Denah penempatan pada perlakuan RAL

B2	C4	E1	A1	D4
A2	D3	B1	E3	C2
C1	E2	A3	B3	D1
C3	A4	E4	D2	B4

4.3.2 Prosedur Kerja

A. Persiapan penelitian

Bibit *B. braunii* dan media kultur yang digunakan berupa pupuk walne dan vitamin B₁₂, semuanya diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Situbondo. Terdapat 20 satuan percobaan sehingga dibutuhkan 20 tabung kaca. Setiap tabung kaca diisi 500 ml medium. Media kultur yang digunakan terdiri dari pupuk walne solution dan vitamin B₁₂ masing-masing sebanyak 1 ml/L dengan kadar salinitas 25 ppt yang sebelumnya telah disterilkan.

B. Sterilisasi peralatan dan bahan

Sterilisasi merupakan suatu proses pemusnahan semua bentuk mikroorganisme hidup termasuk sporanya pada alat dan bahan yang akan disterilkan (Meliawaty, 2012). Sterilisasi digunakan untuk menghilangkan kontaminan yang dapat mengganggu pertumbuhan mikroalga *B. braunii*.

Pada proses sterilisasi alat dan bahan, cara yang dilakukan ada perbedaan. Menurut Umainana dkk. (2012), untuk air laut yang akan digunakan untuk kultur disterilisasi dengan menggunakan larutan khlorin. Air laut disaring terlebih dahulu dengan menggunakan kapas yang diletakkan dalam corong air, kemudian disterilkan dengan khlorin 60 ppm selama 24 jam dan diberi aerasi. Sisa-sisa

khlorin dihilangkan dengan memberikan Na-thiosulfat sebesar 20 ppm dan diaerasi sampai khlorin hilang yang ditandai dengan bau khlorin sudah tidak ada. Pada peralatan kultur yang akan digunakan dicuci sampai bersih kemudian dibilas air tawar dan dikeringkan. Untuk peralatan yang terbuat dari kaca tahan panas harus ditutup dengan kapas dan kasa, kemudian dibungkus dengan *aluminum foil*. Setelah itu disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan peralatan yang tidak tahan panas disterilkan dengan larutan khlorin 150 ppm selama 24 jam. Kemudian dibilas dengan air tawar hingga bersih dan bau khlorin hilang.

C. Penanaman bibit *B. braunii*

Penanaman bibit *B. braunii* dilakukan setelah menghitung kepadatan stok dengan cara mengambil sampel plankton dari media stok dan kemudian dihitung di bawah mikroskop dengan *haemocytometer*. Bibit kemudian dimasukkan ke media dengan kepadatan $5,5 \times 10^5$ sel/ml (Kobayashi *et al.*, 1997).

Menurut Edhy dkk. (2003), penghitungan jumlah bibit plankton yang diperlukan untuk kultur menggunakan rumus:

$$N = \frac{X \times Y}{V}$$

Keterangan:

N : Volume inokulum (ml)
 X : Kepadatan bibit plankton yang dikehendaki (sel/ml)
 Y : Kepadatan inokulum (bibit) yang ada (sel/ml)
 V : Media volume kultur (ml)

Setelah media kultur, pupuk walne dan vitamin B₁₂ dimasukkan kedalam botol, kemudian dilakukan aerasi selama 24 jam. Inokulum kemudian dimasukkan

kedalam botol dengan pH awal media 7-8. Kultur diberi cahaya menggunakan lampu TL 40 watt dengan intensitas cahaya 2.500 lux pada suhu berkisar 29 – 31 °C dan diberi aerasi secara terus menerus.

D. Penghitungan populasi *B. braunii*

Pengamatan pertumbuhan dilakukan sehari setelah penebaran awal. Pengamatan dilakukan selama 12 hari. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan populasi kultur *B. braunii*. Penghitungan dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* dan untuk memudahkan penghitungan digunakan *hand counter*. Penghitungan menggunakan metode “*big block*” dengan cara menghitung sel fitoplankton dari sisi kiri kotak ke arah kanan kotak dan menghitung sel yang berada di dalam garis atau yang mendekati garis batas bagian dalam kotak. Kemudian penghitungan pada 4 blok dijumlah. Kepadatan fitoplankton menurut Rizky dkk. (2013) dapat dihitung dengan menggunakan rumus.

$$\text{Kepadatan fitoplankton (sel/ml)} : \frac{\text{jumlah sel dalam 4 blok} \times 10^4}{\text{Jumlah blok (= 4)}}$$

E. Penghitungan lutein *B. braunii*

Metode yang digunakan dalam perhitungan lutein dalam penelitian ini adalah metode Madhavi dan Kagan (2002). Pertama yang dilakukan adalah menyiapkan sampel sebanyak 5 ml. Sampel kemudian disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3.000 rpm untuk memisahkan biomasa sel dan cairan. Hasil sentrifuge kemudian diambil endapannya kemudian ditimbang menggunakan

timbangan analitik. Biomasa sel kemudian ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:1 (biomasa : n-heksan) untuk melakukan proses maserasi dan dibiarkan selama minimal 24 jam. Setelah 24 jam n-heksan kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak heksan. Ekstrak heksan kemudian ditambahkan isopropanol dengan perbandingan 1:3 (hasil ekstrak : isopropanol) dan dipanaskan sampai suhu 60°C. Pada suhu yang sama ekstrak kemudian ditambah NaOH 50% dengan perbandingan 1:2 (hasil ekstrak : larutan NaOH 50%) dan diaduk secara homogen. Kondisi suhu pada saat ditambahkan NaOH 50% harus relatif stabil dikisaran 60°C hingga terbentuk larutan semisolid. Setelah terbentuk larutan semisolid, sampel didinginkan pada suhu ruang. Larutan semisolid setelah dingin kemudian ditambahkan sejumlah 50 % aquades, kemudian diaduk homogen dan disentrifuge. Proses pencucian menggunakan aquades ini dilakukan beberapa kali sampai supernatan hampir tidak berwarna lagi (bening).

Hasil endapan kemudian ditambahkan etanol sebanyak 5 ml, diaduk homogen dan disentrifuge, kemudian diukur serapan maksimum menggunakan spektrofotometri cahaya tampak pada panjang gelombang 446 nm (Koushan *et al.*, 2013). Perhitungan kandungan karoten sebagai lutein sebagai berikut (Hajare *et al.*, 2013).

$$\text{Konsentrasi lutein} = \frac{A \times V \times \text{dilution factor}}{\epsilon \times W}$$

(µg/g)

Keterangan:

- A : absorbansi pada 446 nm
- V : volume ekstraksi (ml)
- ε : absorbansi koefisien (2589)
- W : berat basah sampel (g)

F. Pengukuran kualitas air

Pengukuran kualitas air pada media kultur *B. braunii* dilakukan setiap hari. Parameter kualitas air yang diamati meliputi suhu, pH, salinitas dan oksigen terlarut. Pengukuran suhu menggunakan *thermometer*, pengukuran pH menggunakan pH pen, pengukuran salinitas menggunakan refraktometer dan pengukuran oksigen terlarut menggunakan DO meter. Pengukuran terhadap suhu dan pH dilakukan setiap hari pada pukul 07.00 WIB dan 16.00 WIB.

4.3.3 Parameter

A. Parameter utama

Parameter utama dalam penelitian ini yang diamati adalah kandungan lutein dari *B. braunii*. Jumlah kandungan lutein dihitung dengan analisis lutein menurut Hajare *et al.* (2013).

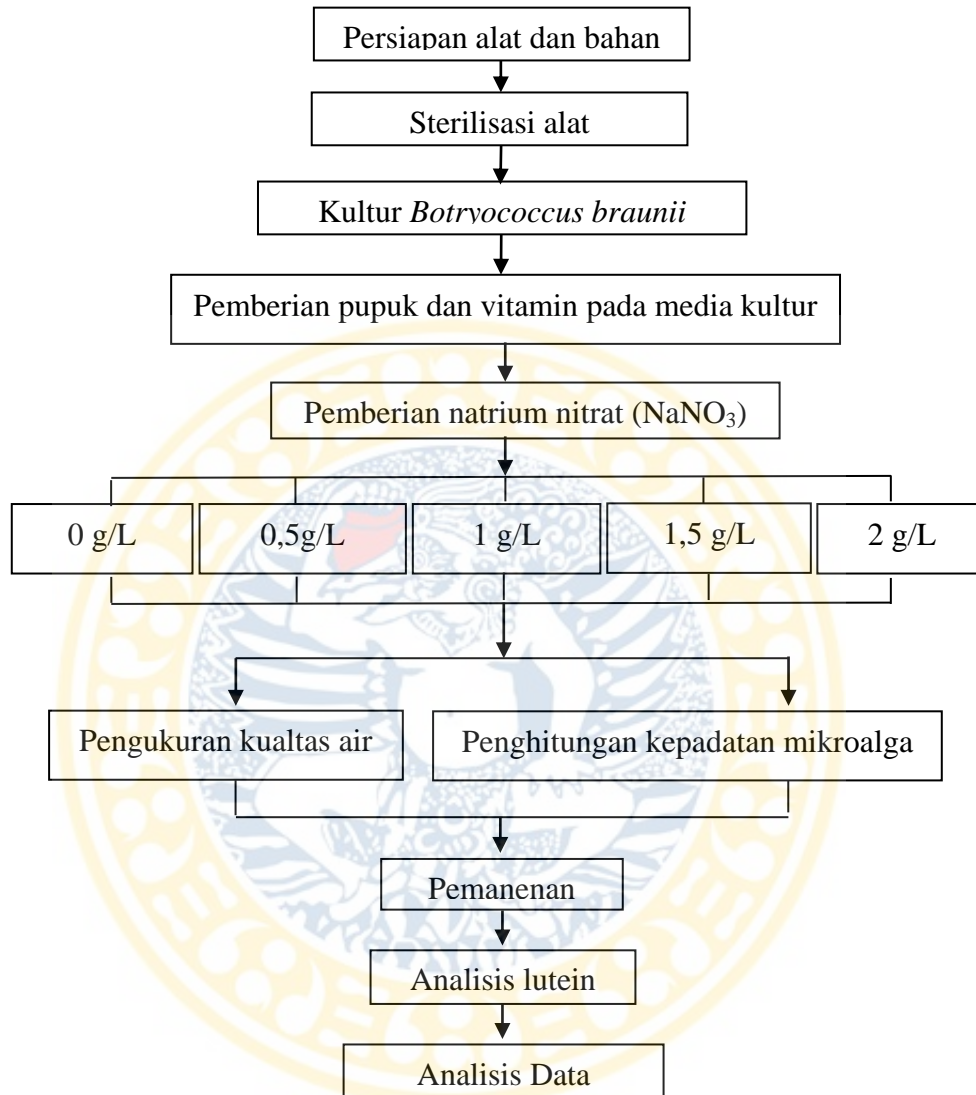
B. Parameter pendukung

Parameter pendukung dari penelitian ini adalah pertumbuhan populasi *B. braunii* dan pengukuran data kualitas air yang terdiri dari suhu, pH, salinitas dan oksigen terlarut.

4.3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh di analisis dengan uji statistik. Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji anava (analisis varian) dengan taraf 5% untuk mengetahui apakah ada pengaruh perlakuan. Uji anava akan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan dengan taraf 5% untuk mengetahui tingkat perbedaan pada setiap perlakuan (Kusriningrum, 2012).

4.3.5 Diagram Alur Penelitian



Gambar 6. Diagram Alur Penelitian

V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil

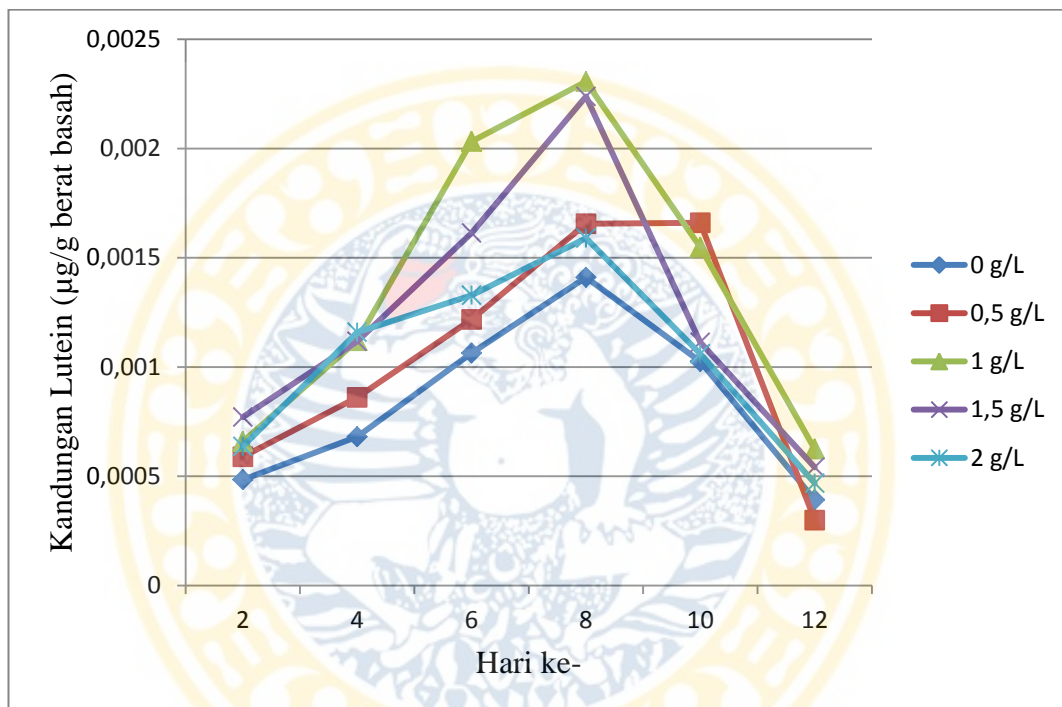
Hasil pengamatan dari penelitian yang telah dilakukan yaitu berupa data kandungan lutein *B. braunii*. Hasil tersebut digunakan untuk mengetahui pengaruh penambahan pupuk natrium nitrat (NaNO_3) yang berbeda pada media kultur *B. braunii*. Berdasarkan hasil pengamatan, diperoleh dosis penambahan pupuk NaNO_3 terbaik untuk peningkatan kandungan lutein pada kultur *B. braunii*. Adapun data pertumbuhan dan parameter kualitas air berupa pH, suhu, *Dissolved Oxygen* (DO) dan salinitas juga ditampilkan sebagai data pendukung pembahasan.

5.1.1 Pengaruh konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) terhadap kandungan lutein *B. braunii*

Hasil pengamatan berupa penghitungan kandungan lutein menggunakan spektrofotometer. Sampel diambil pada hari ke-2, ke-4, ke-6, ke-8, ke-10 dan ke-12. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan Uji Anava dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan. Data lengkap kandungan lutein setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2, sedangkan grafik kandungan lutein dapat dilihat pada Gambar 7.

Hasil Uji Anava menunjukkan bahwa penambahan pupuk NaNO_3 yang berbeda berpengaruh terhadap kandungan lutein pada hari ke-2, ke-4 dan ke-8 ($p < 0,05$) sedangkan hari ke-6, ke-10 dan ke-12 tidak berpengaruh ($p > 0,05$). Berdasarkan grafik rata-rata kandungan lutein tersebut, dapat diketahui bahwa perlakuan C (penambahan NaNO_3 1 g/L) memiliki kandungan lutein tertinggi.

Kandungan lutein tertinggi pada perlakuan C tersebut didapat pada hari ke-8 sebesar 0,002306 $\mu\text{g/g}$. Kandungan lutein terendah terdapat pada perlakuan B (penambahan NaNO_3 0,5 g/L) yang diperoleh pada hari ke-12 dengan jumlah lutein 0,000299 $\mu\text{g/g}$. Untuk lebih jelasnya grafik kandungan lutein dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Rata-rata Kandungan Lutein *Botryococcus braunii* yang Dikultur dengan Penambahan Pupuk NaNO_3 yang Berbeda

Berdasarkan hasil Uji Anava, maka hasil yang berbeda nyata dapat dilanjutkan pada Uji Jarak Berganda Duncan. Hasil Uji Anava menunjukkan hanya hari ke-2, ke-4 dan ke-8 yang memiliki hasil berbeda nyata. Hari ke-6, ke-10 dan ke-12 tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada Uji Anava.

Pada hari ke-2 kandungan lutein tertinggi terdapat pada perlakuan D yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan C dan E. Kandungan terendah terdapat pada perlakuan A yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan B namun berbeda nyata

dengan perlakuan D, C dan E. Pada hari ke-4 kandungan lutein tertinggi terdapat pada perlakuan C, D dan E yang hasilnya berbeda nyata dengan perlakuan A dan B. Hari ke-8 menunjukkan kandungan lutein tertinggi terdapat pada perlakuan C dan D yang berbeda nyata dengan perlakuan A, B dan E. Data Uji Jarak Berganda Duncan lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel. 2.

Tabel 2. Rata-rata Kandungan Lutein *Botryococcus braunii* yang Dikultur dengan Penambahan Pupuk NaNO_3 yang Berbeda

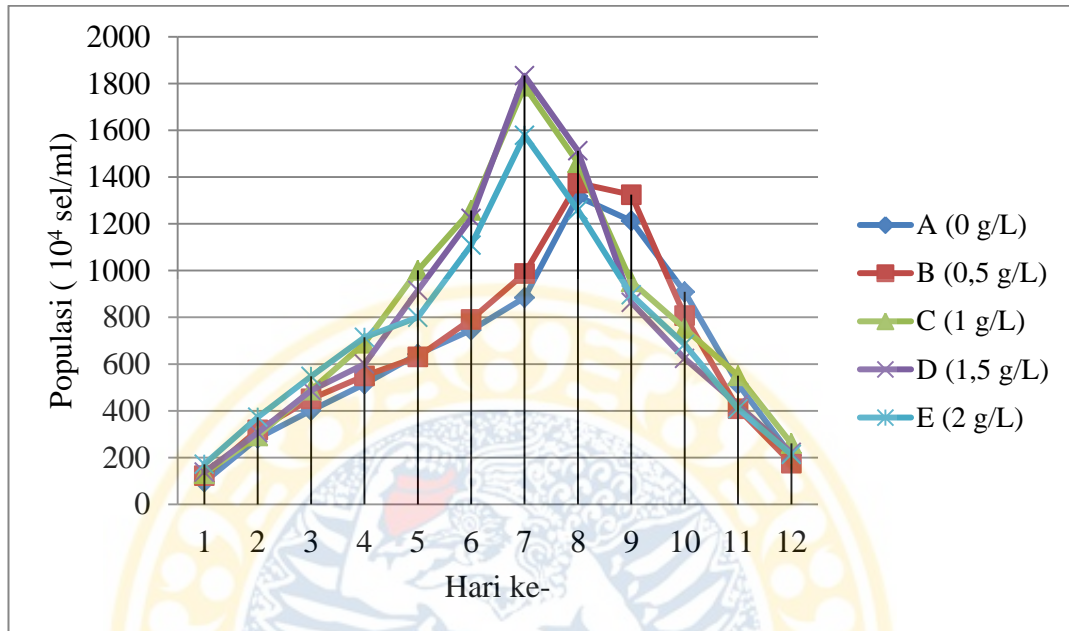
Hari ke-	Kandungan Lutein ($\mu\text{g/g}$)				
	A (0 g/L)	B (0,5 g/L)	C (1 g/L)	D (1,5 g/L)	E (2 g/L)
Ke-2	0,000484 ^c $\pm 0,000047$	0,000589 ^{bc} $\pm 0,000098$	0,000659 ^{ab} $\pm 0,000056$	0,000771 ^a $\pm 0,000110$	0,000637 ^{ab} $\pm 0,000094$
Ke-4	0,000681 ^b $\pm 0,000121$	0,000861 ^b $\pm 0,000139$	0,001120 ^a $\pm 0,000142$	0,001117 ^a $\pm 0,000128$	0,001159 ^a $\pm 0,000157$
Ke-6	0,001064 ^a $\pm 0,000041$	0,001218 ^a $\pm 0,000105$	0,002032 ^a $\pm 0,000362$	0,001613 ^a $\pm 0,000593$	0,001328 ^a $\pm 0,000809$
Ke-8	0,001410 ^b $\pm 0,000183$	0,001656 ^b $\pm 0,000420$	0,002306 ^a $\pm 0,000238$	0,002238 ^a $\pm 0,000428$	0,001590 ^b $\pm 0,000425$
Ke-10	0,001025 ^a $\pm 0,000190$	0,001660 ^a $\pm 0,000749$	0,001548 ^a $\pm 0,000402$	0,001113 ^a $\pm 0,000134$	0,001060 ^a $\pm 0,000110$
Ke-12	0,000392 ^a $\pm 0,000147$	0,000299 ^a $\pm 0,000225$	0,000624 ^a $\pm 0,000253$	0,000541 ^a $\pm 0,000195$	0,000468 ^a $\pm 0,000126$

Keterangan: Superskip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

5.1.2 Pertumbuhan *B. braunii*

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh data tambahan berupa data kepadatan pertumbuhan *B. braunii*. Menurut Hadi (2012), kepadatan mikroalga merupakan salah satu parameter pertumbuhan yang dapat digunakan sebagai acuan untuk mengetahui apakah mikroalga tersebut tumbuh atau tidak. Hasil Uji Anava menunjukkan bahwa dari semua perlakuan hanya hari ke-7 yang berpengaruh pada kultur *B. braunii* dengan penambahan pupuk NaNO_3 yang berbeda terhadap pertumbuhan populasi *B. braunii*. Lebih jelasnya data kepadatan

pertumbuhan dapat dilihat pada Tabel. 3 dan untuk grafik pertumbuhannya dapat dilihat pada Gambar. 8.



Gambar 8. Grafik Rata-rata Pertumbuhan Populasi *Botryococcus braunii*

Pada saat dikultur, mikroalga akan mengalami beberapa fase. Pertama mikroalga akan mengalami fase lag kemudian mengalami fase logaritmik, fase linier, fase stasioner hingga akhirnya mikroalga akan mengalami fase kematian (Agustini, 2014). Dilihat dari data grafik pada Gambar 8, terlihat kalau semua mikroalga dalam perlakuan yang berbeda mengalami kesemua fase tersebut. Pada perlakuan A dan B, *B. braunii* mengalami fase eksponensial pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Hari ke-8 *B. braunii* mengalami fase stasioner dan setelah itu pada hari ke-9 sampai hari ke-12 mikroalga mengalami penurunan kepadatan. Pada perlakuan C, D dan E mengalami puncak kepadatan populasi tertinggi secara bersamaan pada hari ke-7. Setelah itu ke tiga perlakuan tersebut mengalami penurunan kepadatan menuju fase kematian hingga hari ke-12.

Berdasarkan hasil tersebut juga dapat diketahui jumlah kepadatan populasi tertinggi dan terendah dari semua perlakuan. Perlakuan D pada hari ke-7 menjadi perlakuan dengan kepadatan tertinggi dibanding semua perlakuan yaitu sebesar $1834,0000 \times 10^4$ sel/ml, sedangkan perlakuan B mengalami jumlah kepadatan terendah pada hari ke-12 dengan jumlah kepadatan sebesar $176,5625 \times 10^4$ sel/ml.

Tabel 3. Data Populasi Kepadatan *Botryococcus braunii* ($\times 10^4$ sel/ml)

Hari ke	Populasi ($\times 10^4$ sel/ml) pada perlakuan				
	A (0 g/L)	B (0,5 g/L)	C (1 g/L)	D (1,5 g/L)	E (2 g/L)
Ke-1	95,5625 ^a $\pm 29,0290$	122,5000 ^a $\pm 43,5579$	130,7500 ^a $\pm 45,0957$	138,0000 ^a $\pm 46,1767$	117,1875 ^a $\pm 46,0260$
Ke-2	282,7500 ^a $\pm 80,8551$	318,5625 ^a $\pm 62,5394$	292,5625 ^a $\pm 82,8622$	306,4375 ^a $\pm 21,8321$	372,6250 ^a $\pm 106,2984$
Ke-3	401,7500 ^a $\pm 78,0966$	451,2500 ^a $\pm 91,0449$	488,2500 ^a $\pm 68,7868$	486,8750 ^a $\pm 47,0131$	547,6250 ^a $\pm 69,6388$
Ke-4	514,7500 ^a $\pm 40,0729$	549,1250 ^a $\pm 64,0912$	688,7500 ^a $\pm 215,0621$	600,2500 ^a $\pm 65,3959$	714,4375 ^a $\pm 147,6543$
Ke-5	642,8125 ^a $\pm 95,9469$	630,5625 ^a $\pm 80,9268$	1000,8750 ^a $\pm 524,4903$	915,1875 ^a $\pm 58,3239$	800,3125 ^a $\pm 124,9189$
Ke-6	745,5000 ^a $\pm 67,5521$	790,8125 ^a $\pm 111,1128$	1257,0625 ^a $\pm 315,0249$	1223,3750 ^a $\pm 238,0240$	1108,7500 ^a $\pm 531,4656$
Ke-7	884,5000 ^c $\pm 86,5737$	987,6250 ^{bc} $\pm 85,2893$	1788,7500 ^a $\pm 668,8304$	1834,0000 ^a $\pm 512,8554$	1578,3125 ^{ab} $\pm 371,6637$
Ke-8	1316,6250 ^a $\pm 159,7994$	1374,6250 ^a $\pm 240,0237$	1461,1250 ^a $\pm 293,6087$	1512,6250 ^a $\pm 595,1679$	1259,1250 ^a $\pm 381,0840$
Ke-9	1213,1250 ^a $\pm 150,5946$	1324,6250 ^a $\pm 782,4785$	952,0625 ^a $\pm 190,5814$	863,5625 ^a $\pm 104,7828$	896,6875 ^a $\pm 29,2898$
Ke-10	909,0625 ^a $\pm 163,4317$	807,7500 ^a $\pm 441,1144$	752,6250 ^a $\pm 222,8686$	624,0000 ^a $\pm 104,2091$	684,2500 ^a $\pm 120,3123$
Ke-11	514,8125 ^a $\pm 234,8432$	408,6875 ^a $\pm 347,8840$	550,3125 ^a $\pm 240,5316$	425,4375 ^a $\pm 139,9916$	409,0625 ^a $\pm 119,4322$
Ke-12	208,8125 ^a $\pm 142,9043$	176,5625 ^a $\pm 151,2887$	260,5000 ^a $\pm 214,3452$	222,3125 ^a $\pm 156,1042$	247,8750 ^a $\pm 101,3810$

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Data pertumbuhan berdasarkan hasil Uji Anava yang memiliki hasil berbeda nyata selanjutnya dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan. Berdasarkan uji Anava hanya hari ke-7 yang memiliki hasil berbeda nyata antar setiap perlakuan.

Pada hari ke-7 perlakuan C dan D memiliki jumlah kepadatan populasi yang berbeda nyata dengan perlakuan B dan A, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan E. Sedangkan perlakuan E memiliki hasil jumlah kepadatan yang berbeda nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B.

5.1.3 Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari sebanyak dua kali selama masa pemeliharaan. Parameternya adalah suhu, pH, salinitas dan oksigen. Adapun hasil kisaran pengukuran data kualitas air dapat dilihat pada Tabel. 4, sedangkan untuk data keseluruhan dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 4. Kisaran Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan *Botryococcus braunii*.

No	Parameter	Hasil	Satuan
1	Suhu	28,8-31,6	°C
2	pH	7,9-9,1	-
3	Salinitas	24,25-30,25	ppt
4	Oksigen	5-7,2	mg/L

5.2 Pembahasan

5.2.1 Pengaruh konsentrasi natrium nitrat (NaNO_3) terhadap kandungan lutein *B. braunii*

Hasil Uji Anava mengenai pengaruh penambahan nutrisi pupuk NaNO_3 terhadap kandungan lutein *B. braunii* menunjukkan bahwa penambahan pupuk NaNO_3 yang berbeda berpengaruh terhadap kandungan lutein pada hari ke-2, ke-4 dan ke-8 ($p < 0,05$) sedangkan pada hari ke-6, ke-10 dan ke-12 tidak berpengaruh ($p > 0,05$). .

Perlakuan A memiliki jumlah lutein terendah, sedangkan perlakuan C memiliki jumlah lutein tertinggi namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan D. Hal ini diakibatkan pada perlakuan C maupun D, mikroalga mempunyai kepadatan populasi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain akibat dari penambahan pupuk NaNO_3 yang berdampak pada peningkatan produksi lutein juga. Hasil penelitian Agustini (2014) juga memperlihatkan hasil yang sama yaitu peningkatan karotenoid berbanding lurus dengan kepadatan biomasa. Semakin tinggi jumlah pupuk NaNO_3 yang diberikan semakin tinggi kandungan lutein yang dihasilkan oleh *B. braunii*, namun tetap *B. braunii* memiliki batas maksimal menerima tambahan pupuk tersebut. Hasil Uji Jarak Berganda Duncan pada hari ke-8 juga menunjukkan bahwa kandungan lutein tertinggi terdapat pada perlakuan C yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan D namun keduanya berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Pupuk NaNO_3 merupakan jenis pupuk yang memiliki unsur nitrat didalamnya. Didalam nitrat tersebut terdapat kandungan nitrogen. Nitrogen yang dapat diserap oleh mikroalga adalah nitrogen yang berada dalam bentuk ion nitrat dan ion ammonium (Ernest, 2012). Menurut Venkatesan *et al.* (2013), dalam perairan *B. braunii* akan lebih memanfaatkan nitrat dari pada ammonium. Secara khusus nitrat memiliki peran dalam meningkatkan produksi biomassa dan kandungan esensial mikroalga seperti protein, lemak, klorofil dan karotenoid (Wijoseno, 2011), sedangkan Na berperan untuk pembentukan klorofil (Agustini dan Kabinawa, 2002).

Di dalam nitrat terdapat unsur nitrogen yang merupakan bahan pembentuk asam nukleat. Asam nukleat (DNA dan RNA) akan pembentukan asam-asam amino (unit terkecil protein) yang nantinya kumpulan dari beberapa asam amino tersebut akan membentuk asam piruvat (Ngili, 2010). Asam piruvat merupakan bahan dasar pembentuk IPP melalui jalur mekanisme MEP yang nantinya IPP tersebut dapat digunakan untuk biosintesis karotenoid (Misawa, 1995). Pada penelitian yang telah dilakukan terbukti bahwa perlakuan B, C, D dan E dengan penambahan pupuk NaNO_3 sesuai dosis masing-masing memiliki jumlah lutein lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan A (kontrol). Namun tetap mikroalga memiliki batas toleransi terhadap penambahan pupuk tersebut. Hal tersebut yang membuat perlakuan C memiliki jumlah lutein lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan E yang diberikan tambahan pupuk NaNO_3 lebih banyak. Hal tersebut diperjelas oleh Amanantin dan Tutik (2013) yang menyatakan bahwa adanya batas maksimum penggunaan nutrisi dari medium oleh sel sehingga terjadi penghambatan proses biosintesisnya terutama biosintesis protein.

Berdasarkan hasil penelitian juga diketahui bahwa kandungan lutein setiap perlakuan tertinggi terjadi pada hari ke-8. Peningkatan biomassa populasi berbanding lurus dengan tingkat produksi lutein. Hal itu terjadi hampir disemua perlakuan, baik A, B, C, D maupun E. Agustini (2014) menyebutkan bahwa kadar pigmen tertinggi terjadi pada fase puncak, dikarenakan pada fase ini jumlah sel mencapai maksimum mengakibatkan terjadi keterbatasan sel dalam peroleh cahaya maupun nutrisi. Di samping itu juga, saat fase ini sel berusaha untuk mempertahankan dirinya sehingga sel meningkatkan produksi karotenoid.

Menurut Fernandez *et al.* (2010), semakin tinggi kepadatan populasi mikroalga *B. braunii* maka semakin tinggi kadar karotenoidnya. Kandungan lutein mengalami peningkatan ketika pertumbuhan mikroalga juga mengalami peningkatan.

5.2.2 Pertumbuhan *B. braunii*

Selain data tentang produksi lutein, diperoleh juga data sekunder berupa pertumbuhan *B. braunii* selama masa kultur. Hasil Uji Anava menunjukkan bahwa dari semua perlakuan yang diberikan hanya hari ke-7 yang berpengaruh pada kultur *B. braunii* dengan penambahan pupuk NaNO_3 yang berbeda terhadap pertumbuhan populasi *B. braunii* ($p < 0,05$).

Pada hari ke-1 semua perlakuan mengalami fase lag. Pada fase lag tersebut sel mikroalga *B. braunii* masih dalam tahap adaptasi sebagai upaya penyesuaian diri dari perubahan kondisi lingkungan media awal ke media yang baru (Ayustama dan Eka, 2011). Menurut Isnansetyo dan Kurniastuti (1995), fase lag kurang dari 24 jam terjadi setelah penambahan inokulan ke dalam media kultur. Pada fase ini ukuran sel meningkat, mengalami metabolisme tetapi belum mengalami pembelahan. Selanjutnya pada hari ke-2 sampai hari ke-6 (untuk perlakuan C, D dan E) dan hari ke-2 sampai hari ke-7 (untuk perlakuan A dan B) terjadi fase eksponensial. Dalam fase ini mikroalga mengalami pertumbuhan secara cepat. Hal ini ditandai dengan jumlah sel yang melimpah dibanding hari-hari sebelumnya. Pada fase ini struktur sel masih normal secara nutrisi terjadi keseimbangan antar nutrisi dalam media (Ayustama dan Eka 2011).

Pada hari ke-7 (perlakuan C, D dan E) dan ke-8 (perlakuan A dan B) plankton yang dikultur mengalami fase stasioner. Fase ini terjadi karena nutrisi

dalam media sudah sangat berkurang sehingga tidak mencukupi untuk pertumbuhan dan pembelahan sel (Prihantini dkk., 2005). Fase stasioner merupakan akhir dari produksi biomasa sel. Pada fase ini, konsentrasi maksimum biomasa tercapai (Setyaningsih, 2011). Setelah fase stasioner kerapatan sel mengalami penurunan yang menandakan kultur telah memasuki fase kematian. (Prihantini dkk., 2005). Fase kematian kultur terjadi setelah fase stasioner pada setiap perlakuan dan terjadi sampai hari ke-12 masa pemeliharaan. Fase tersebut terjadi akibat perubahan kualitas air yang semakin memburuk, penurunan nutrisi dalam media kultur dan kemampuan sel dalam melakukan metabolisme. Hal ini ditandai dengan warna air kultur berubah, terjadi buih dipermukaan media kultur dan warna yang pudar serta gumpalan sel alga yang mengendap di dasar kultur (Ayustama dan Eka, 2011).

Perbedaan lama fase dalam setiap perlakuan tentunya dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti umur, suhu, intensitas cahaya dan nutrisi. Sedangkan secara kasat mata hal tersebut dapat dilihat dari jumlah kepadatan sel yang ditandai dengan perubahan warna kultur. Pertumbuhan mikroalga dalam kultur dapat ditandai dengan bertambahnya jumlah sel (Setyaningsih, 2011).

Penambahan konsentrasi nitrogen sebagai nutrisi media dalam pupuk NaNO_3 tentunya akan berpengaruh dalam pertumbuhan mikroalga. Pada perlakuan E dengan jumlah NaNO_3 terbanyak (2 g/L) berakibat pada penurunan jumlah kepadatan biomasanya dibandingkan dengan perlakuan B dan C. Menurut Umainana dkk. (2012) dengan jumlah nitrogen yang berlebih akan menghambat pertumbuhan karena tidak terjadi pembentukan protoplasma baru. Amanantin dan

Tutik (2013) juga menjelaskan bahwa hal tersebut disebabkan karena adanya batas maksimum penggunaan nutrisi dari medium oleh sel sehingga terjadi penghambatan proses biosintesisnya terutama biosintesis protein.

5.2.3 Kualitas Air

Selama melakukan proses pemeliharaan, pengontrolan kondisi lingkungan juga dilakukan. Hal ini dikarenakan faktor lingkungan sangat berperan dalam pertumbuhan mikroalga.

Berdasarkan hasil pengecekan diperoleh data suhu berkisar antara 28,8-31,6 °C. Kisaran suhu tersebut dapat dikategorikan masih sesuai. Hal itu dikarenakan pada penelitian yang dilakukan oleh Hadi (2012), suhu pemeliharaan berada pada kisaran 27-31 °C. Yoshimura *et al.* (2013) juga menyatakan bahwa suhu optimum *B. braunii* untuk tumbuh adalah 30 °C. Suhu mempengaruhi aktifitas metabolisme organisme, selain itu suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu dan dapat menyebabkan kematian bila peningkatan suhu tersebut melebihi batas optimum organisme dapat menerimanya (Rizky, 2010).

Selain itu salinitas pemeliharaan yang dilakukan Hadi (2012) juga berkisar antara 25-30 ppt. Hal tersebut tidak berbeda nyata dengan kadar salinitas yang diperoleh, yaitu berkisar 24,25-30,25 ppt. Salinitas merupakan salah satu faktor pembatas bagi pertumbuhan mikroalga. Meningkatnya salinitas dapat menyebabkan stres osmotik yang berpengaruh terhadap tekanan osmosis dalam sel, sehingga aktivitas sel menjadi terganggu (Marcarelli *et al.*, 2006).

Adapun nilai pH berkisar anatar 7,9-9,1 dan DO berkisar 5-7,2 mg/L. *B. braunii* dapat hidup dalam rentang pH 7-9,5 namun pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 8,5 (Rai *et al.*, 2007). Nilai pH yang berada pada ambang batas normalnya dapat menurunkan kecepatan tumbuh dari mikroalga (Resmawati dkk., 2012). Siklus transfer oksigen dan karbondioksida yang terjadi sejalan dengan proses fotosintesis dalam kolam perairan juga sangat menentukan kondisi pH dan kandungan oksigen terlarut dalam perairan (Szyper *and* Ebeling, 1993).



VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini adalah:

1. Perbedaan penambahan natrium nitrat (NaNO_3) pada media kultur *Botryococcus braunii* berpengaruh terhadap produktivitas lutein pada hari ke-2, ke-4 dan ke-8.
2. Pada masa kultur kandungan lutein tertinggi terdapat pada perlakuan C (1 g/L NaNO_3) dengan jumlah lutein 0,002306 $\mu\text{g/g}$ pada hari ke-8. Sedangkan untuk kandungan lutein terendah terdapat pada perlakuan B (0,5 g/L NaNO_3) dengan jumlah lutein 0,000299 $\mu\text{g/g}$ pada hari ke-12.

6.2 Saran

Botryococcus braunii dapat hidup dengan memproduksi lutein lebih tinggi dengan penambahan natrium nitrat 1 g/L (perlakuan C) dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Di atas perlakuan tersebut produksi lutein terjadi penurunan. Penambahan senyawa lain sebagai upaya untuk meningkatkan kandungan lutein dapat dilakukan karena diketahui untuk pembentukan karotenoid sendiri selain berasal dari nitrogen, juga dapat berasal dari karbohidrat dan lemak yang sama-sama berpengaruh dalam pembentukan asam piruvat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanatin, D. R. dan Tutik N. 2013. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Media Ekstrak Tauge (MET) dengan Pupuk Urea terhadap Kadar Protein *Spirulina* sp. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya. Sains dan Seni Pomits, 2 (2): 2337-3520.
- Agustini, N. W. S. 2014. Kandungan Pigmen Astaxanthin dari Mikroalga *Botryococcus braunii* Pada Berbagai Penambahan Nitrogen dan Phosphor. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. 9 hal.
- Agustini, W. S. dan Kabinawa K. 2002. Pengaruh Konsentrasi Nitrat Sebagai Sumber Nitrogen dalam Media Kultur terhadap Pembentukan Asam Arakidonat dari Mikroalga *Pophyridium cruentum*. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI: Bogor. 8 hal.
- Ayustama, A. L. S dan E. A. W. Sari. 2011. Proses Produksi Mikroalga Dalam Photobioreaktor Mini Pond secara Batch untuk Bahan Bakar Biodisel. Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. 6 hal.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2008. Naturkos, 3 (8). 12 hal.
- Banerjee A, Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC. 2002. *Botryococcus braunii*: A Renewable Source of Hydrocarbons and Other Chemicals. Crit. Rev. Biotechn 22 (3). 245–279.
- Batista, A. P., A. Raymundo., I. Sousa and J. Empis. 2006. Rheological Characterization of Coloured Oil-In-Water Food Emulsions With Lutein and Phycocyanin Added To The Oil and Aqueous Phases. Food Hydrocolloids, 20: 44–52.
- Coutteau, P. 1996. Micro-algae: Manual on The Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. Italy. 295 p.
- Cuttriss, A and B. Pogson. 2004. Carotenoids. Plant Pigments and Their Manipulation. Pp 57–60.
- Dayananda, C., R. Sarada., V. Kumar and G. A. Ravishankar. 2007. Isolation and Characterization of Hydrocarbon Producing Green Alga *Botryococcus braunii* from Indian Freshwater Bodies. Electronic Journal of Biotechnology, 10 (1): 78–91.
- Dayananda, C., A. Kumudha., R. Sarada and G. A. Ravishankar. 2010. Isolation, Characterization and Outdoor Cultivation of Green Microalgae *Botryococcus* sp. Department of Plant Cell Biotechnology, Central Food Technological Research Institute. India. 9 p.

- Edhy, W. A., J. Pribadi dan Kurniawan. 2003. Plankton di Lingkungan PT. Central Pertiwi Bahari Suatu Pendekatan Biologi dan Manajemen Plankton dalam Budidaya Udang. Laboratorium Central Department Aquaculture Division PT. Central Pertiwi Bahari.
- El-Raey, M. A., G. E. Ibrahim and O. A. Eldahshan. 2013. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Lycopene and Lutein; A review for their Chemistry and Medicinal Uses. Pharmacognosy Department, Faculty of Pharmacy, Ain Shams University, Cairo. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2 (1). 10 p.
- Ernest, P. 2012. Pengaruh Kandungan Ion Nitrat terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. Skripsi. Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. 83 hal.
- Fernandez, J. M., F. G. A. Fernandez, E. M. Grima. 2010. Biotechnological Production of Lutein and Its Applications. Microbiol, Biotechnol, 86: 27–40.
- Frete, H., A. B. Susanto., B. Prasetyo dan L. Limantara. 2012. Karotenoid dari Makroalga dan Mikroalga: Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, 23 (2). 8 hal.
- Hadi, K. 2012. Kandungan DHA, EPA dan AA dalam Mikroalga Laut dari Spesies *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus* dan *Porphyridium cruentum* yang Dikultivasi secara Heterotrof. Skripsi. Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. 84 hal.
- Hajare, R., A. Ray., Shreya., Tharachand C, Mythili A. M. N and Immanuel S. C. 2013. Extraction and Quantification of Antioxidant Lutein From Various Plant Sources. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 22 (1). 6 p.
- Handayani, N. A. dan D. Ariyanti. 2012. Potensi Mikroalga Sebagai Sumber Biomasa dan Pengembangan Produk Turunannya. Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro. 33 (2). 8 hal.
- Hidayah, H. A. 2013. Pertumbuhan dan Pasca Panen Mikroalga Hasil Kultur Skala Semi Massal. Universitas Sudirman. 11 hal.
- Hirose, M., F. Mukaida, S. Okada and T. Noguchi. 2013. Active Hydrocarbon Biosynthesis and Accumulation in a Green Alga, *Botryococcus braunii* (Race A). Journal of American Society of Microbiology, 12 (8). 1132–1141.
- International Plant Nutrition Institute (IPNI). 2010. Nutrient Source Specifics: Potassium Nitrate. United State of America. 1 p.

- Inthe, I. C. 2012. Efek Pencahayaan terhadap Produksi Biomassa *Nannochloropsis* sp. Pada Reaktor Pelat Datar. Skripsi. Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. 107 hal.
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. hal 34-85.
- Kim, H. W., B. P. Chew., T. S. Wong., J. S. Park., B. B. C. Weng., K. M. Byrne., M. G. Hayek and G. A. Reinhart. 2000. Dietary Lutein Stimulates Immune Response in The Canine. Veterinary Immunology and Immunopathology. 13 p.
- Kobayashi, M., T. Kakizono., N. Nishio., Y. Kurimura and Y. Tsuji. 1997. Antioxidant Role of Astaxanthin in the Green Alga *Haematococcus pluvialis*. Appl Microbiol Biotechnol, 48: 351-356.
- Koushan, K., R. Rusovici., W. Li., L. R. Ferguson and K. V. Chalam. 2013. The Role of Lutein in Eye-Related Disease. University of Florida. Nutrients (5); 1823-1839.
- Kusmiati, N. W. S. Agustini, S. R. Tamat dan M. Irawati. 2010. Ekstraksi dan Purifikasi Senyawa Lutein dari Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* Galur Lokal Ink. Pusat Penelitian Bioteknologi-Lipi. Jurnal Kimia Indonesia, 5 (1). 5 hal.
- Kusmiati. 2010. Peningkatan Produksi Lutein dari Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* untuk Penyediaan Bahan Baku Kosmetika dan Uji Efektivitas Sebagai Antioksidan (*In Vivo*). Program Insentif Peneliti dan Perekayasa LIPI. Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). 46 hal.
- Kusriningrum. 2012. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya. hal 43-69.
- Kutzing, F. T. 1849. Species Algarum. Lipsiae [Leipzig]: F. A. Brockhaus. pp 892.
- Lamers, P. P. 2011. Metabolomics of Carotenoid Accumulation in *Dunaliella salina*. Thesis. Wageningen University. Wageningen. Netherlands. 176 p.
- Limantara, L dan Indriatmoko. 2012. Pigmen Alami Kaya Manfaat. Food Review Indonesia, 7 (4). 3 hal.
- Madhavi. D.L. and Kagan D.I. 2002. Process for The Isolation of Mixed Carotenoids From Plants. *United States Patent Documents, United States* (6): 380,442.

- Mamduh, A., E. D. Masithah dan M. A. Alamsjah. 2013. Pengaruh Pemberian Pupuk *Azolla pinnata* Terhadap Kandungan Klorofil Pada *Dunaliella salina*. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga. 10 hal.
- Marcarelli, A. M., W. A. Wurtsbaugh and O. Griset. 2006. Salinity Controls Phytoplankton Response to Nutrient Enrichment in The Great Salt Lake, Utah, USA. *Can. J. Fish. Aquatic. Sci.* 63 : 2236-2248
- Material Safety Data Sheet. 2009. Sodium Nitrate. *LabChem Inc.* 6 p.
- Meliawaty, F. 2012. Efisiensi Sterilisasi Alat Bedah Mulut melalui Inovasi Oven dengan Ozon dan Infrared. Program Studi Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha. Bandung. *JKM*, 11(2):147-167.
- Metzger, P and C. Largeau. 2005. *Botryococcus braunii*: A Rich Source for Hydrocarbons and Related Ether Lipids. *Appl Microbiol Biotechnol*, 66: 486–496.
- Misawa, N., Y. Satomi, K. Kondo, A. Yokoyama, S. Kajiwar, T. Saito, T. Ohtani And W. Miki. 1995. Structure and Functional Analysis of A Marine Bacterial Carotenoid Biosynthesis Gene Cluster and Astaxanthin Biosynthetic Pathway Proposed at the Gene Level. *Journal of Bacteriology*, 177 (22): 6575–6584.
- Muntean, E., N. Muntean., N. Dragoş and V. Bercea. 2008. Carotenoids as Biomarkers in *Botryococcus braunii* Algae Carotenoide - Biomarkeri in Alga *Botryococcus braunii*. Cluj Napoca, Romania. 6 p.
- Ngili, Y. 2010. Biokimia Dasar. Rekayasa Sains. Bandung. hal 355-402.
- Prihantini, N. B., B. Putri dan R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. Dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) Dengan Variasi pH Awal. Fakultas MIPA. Universitas Indonesia. Depok. *Makara, Sains*, 9 (1): 1-6.
- Pujiono, A. E. 2013. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* Pada Medium Air Laut Dengan Intensitas Cahaya, Lama Penyinaran dan Jumlah Inokulan Yang Berbeda Pada Skala Laboratorium. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember. 57 hal.
- Rai, U. N., S. Dwivedi., V. S. Baghel., R. D. Tripathi., O. P. Shukla and M. K. Shukla. 2007. Morphology and Cultural Behavior of *Botryococcus protuberans* with Notes on the Genus. National Botanical Research Institute, Lucknow, India. *Journal of Environmental Biology*, 28 (2): 181-184.

- Ramos, A. A., A. R. Marques., M. Rodrigues., N. Henriques., A. Baumgartner., R. Castilho., B. Brenig and J. C. Varela. 2008. Molecular and Functional Characterization of a cDNA Encoding 4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl Diphosphate Reductase from *Dunaliella salina*. Journal of Plant Physiology. 10 p.
- Rao, A. R., R. Sarada, V. Baskaran, and G. A. Ravishankar. 2006. Antioxidant Activity of *Botryococcus braunii* Extract Elucidated in Vitro Models. Journal Agricultural Food Chemistry, 54: 4593–4599.
- Resmawati, M. B., E. D. Masithah dan L. Sulmartiwi. 2012. Pengaruh Pemberian Pupuk Cair Limbah Ikan Lemuru (*Sardinella* sp.) terhadap Kepadatan Populasi *Spirulina platensis*. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga. Surabaya. Journal of Marine and Coastal Science, 1(1): 22 – 33.
- Rizky, N. M. 2010. Optimasi Kultivasi Mikroalga Laut *Nannochloropsis oculata* dengan Perlakuan Pupuk Urea untuk Produksi Lemak Nabati. Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Rizky, Y. A., I. Raya dan S. Dali. 2013. Penentuan Laju Pertumbuhan Sel Fitoplankton *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina* dan *Porphyridium cruentum*. Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Hasanuddin Makassar. Sulawesi Selatan. 7 hal.
- Sari, A. M., H. E. Mayasari., Rachimoellah dan S. Zullaikah. 2013. Pertumbuhan dan Kandungan Lipida dari *Botryococcus braunii* dalam Media Air Laut. Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). 6 hal.
- Sasaki, M., K. Yuki., T. Kurihara., S. Miyake., K. Noda., S. Kobayashi., S. Ishida., K. Tsubota and Y. Ozawa. 2011. Biological Role of Lutein in The Light-Induced Retinal Degeneration. Journal of Nutritional Biochemistry. 7 p.
- Setyaningsih, I., A. T. Saputra dan Uju. 2011. Komposisi Kimia dan Kandungan Pigmen *Spirulina fusiformis* pada Umur Panen yang Berbeda dalam Media Pupuk. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 14 (1): 63-69.
- Sharma, A., R. R. Ambati., D. Chandrappa., S. Ravi and R. D. Aswathanarayana. 2011. *Botryococcus braunii*, a New Elicitor for Secondary Metabolite Production in *Capsicum frutescens*. Functional Plant Science and Biotechnology. Global Science Books. 5 p.

- Sommerburg, O., J. E. E. Keunen., A. C. Bird and F. J. G. M. Van Kuijk. 1998. Fruits and Vegetables that are Sources for Lutein and Zeaxanthin: The Macular Pigment in Human Eyes. *Br J Ophthalmol*, 82: 907–910.
- Suryana, U dan Nurhadiati. 2008. Fiksasi CO₂ Menggunakan Mikroalga *Botryococcus braunii* pada Bioreaktor *Up Lift*. Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung. 58 hal.
- Susilowati, R. dan Amini, S. 2009. Optimalisasi Media Kultivasi *Botryococcus braunii* Mikroalga Dalam Salinitas yang Berbeda. Prosiding Seminar Perikanan Indonesia, Jogjakarta. 6 p.
- Szyper, J. P. and J. M. Ebeling. 1993. Hotosynthesis and Community Respiration at Three Depths During a Period of Stable Phytoplankton Stock in a Eutrophic Brackish Water Culture Pond. University of Hawaii. USA. *Marine Ecology Progress Series*, 94: 229-238.
- Tanjung, C dan D. R. Sjarif. 2013. Manfaat Penambahan Lutein dalam Susu Formula: Tinjauan Sistematis. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Jakarta, 40 (1). 5 hal.
- Umainana, M. R., A. S. Mubarak dan E. D. Masithah. 2012. Pengaruh Konsentrasi Pupuk Daun Turi Putih (*Sesbania grandiflora*) terhadap Populasi *Chlorella* sp. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga. Surabaya. 9 hal.
- Venkatesan, S., M. S. Swamy., D. Jayavel., C. Senthil., S. Bhaskar and R. Rengasamy. 2013. Effects of Nitrate and Phosphate on Total Lipid Content and Pigment Production in *Botryococcus braunii* Kutzing KM-104. Chennai, India. *J. Acad. Indus. Res*, 1 (12). 5 p.
- Wijoseno, T. 2011. Uji Pengaruh Variasi Media Kultur terhadap Tingkat Pertumbuhan dan Kandungan Protein, Lipid, Klorofil dan Karotenoid Pada Mikroalga *Chlorella vulgaris* Buitenzorg. Skripsi. Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. 88 hal.
- Yoshimura, T., S. Okada and M. Honda. 2013. Culture of The Hydrocarbon Producing Microalga *Botryococcus braunii* Strain Showa: Optimal CO₂, Salinity, Temperature and Irradiance Conditions. Jepang. *Bioresource Technology*, 133: 232–239.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Kandungan Lutein *Botryococcus braunii*

1. Hari ke-2

Perlakuan	Ulangan ($\mu\text{g/g}$)				Rata-rata
	1	2	3	4	
A (0 gram)	0,000423	0,000488	0,000491	0,000536	0,000484
B (0,25 gram)	0,000528	0,000646	0,000486	0,000696	0,000589
C (0,5 gram)	0,000580	0,000712	0,000672	0,000673	0,000659
D (0,75 gram)	0,000662	0,000882	0,000848	0,000691	0,000771
E (1 gram)	0,000692	0,000740	0,000576	0,000541	0,000637

2. Hari ke-4

Perlakuan	Ulangan ($\mu\text{g/g}$)				Rata-rata
	1	2	3	4	
A (0 gram)	0,000723	0,000612	0,000830	0,000558	0,000681
B (0,25 gram)	0,000919	0,000973	0,000658	0,000893	0,000861
C (0,5 gram)	0,001031	0,001095	0,001025	0,001328	0,001120
D (0,75 gram)	0,001156	0,001274	0,001060	0,000978	0,001117
E (1 gram)	0,001073	0,001307	0,000982	0,001275	0,001159

3. Hari ke-6

Perlakuan	Ulangan ($\mu\text{g/g}$)				Rata-rata
	1	2	3	4	
A (0 gram)	0,001020	0,001099	0,001100	0,001038	0,001064
B (0,25 gram)	0,001176	0,001372	0,001186	0,001138	0,001218
C (0,5 gram)	0,002146	0,001800	0,001693	0,002491	0,002032
D (0,75 gram)	0,002448	0,001058	0,001550	0,001395	0,001613
E (1 gram)	0,000933	0,000994	0,000847	0,002539	0,001328

4. Hari ke-8

Perlakuan	Ulangan ($\mu\text{g/g}$)				Rata-rata
	1	2	3	4	
A (0 gram)	0,001628	0,001181	0,001422	0,001409	0,001410
B (0,25 gram)	0,001777	0,002075	0,001076	0,001696	0,001656
C (0,5 gram)	0,002144	0,002065	0,002462	0,002552	0,002306
D (0,75 gram)	0,001905	0,002391	0,001880	0,002774	0,002238
E (1 gram)	0,001808	0,001513	0,001030	0,002009	0,001590

5. Hari ke-10

Perlakuan	Ulangan ($\mu\text{g/g}$)				Rata-rata
	1	2	3	4	
A (0 gram)	0,001231	0,000923	0,000815	0,001131	0,001025
B (0,25 gram)	0,002366	0,001961	0,000615	0,001697	0,001660
C (0,5 gram)	0,001728	0,000972	0,001598	0,001892	0,001548
D (0,75 gram)	0,001301	0,001118	0,001018	0,001015	0,001113
E (1 gram)	0,000952	0,001140	0,000978	0,001168	0,001060

6. Hari ke-12

Perlakuan	Ulangan ($\mu\text{g/g}$)				Rata-rata
	1	2	3	4	
A (0 gram)	0,000537	0,000195	0,000376	0,000461	0,000392
B (0,25 gram)	0,000520	0,000409	0,000000	0,000266	0,000299
C (0,5 gram)	0,000728	0,000397	0,000437	0,000933	0,000624
D (0,75 gram)	0,000689	0,000678	0,000270	0,000526	0,000541
E (1 gram)	0,000588	0,000296	0,000463	0,000526	0,000468

Lampiran 2. Data Pertumbuhan Populasi *Botryococcus brunii*

1. Perlakuan A(0 gram)

Hari ke-	Ulangan ($\times 10^4$ sel/ml)				Rata-rata
	1	2	3	4	
1	100,7500	55,5000	101,0000	125,0000	95,5625
2	216,0000	273,7500	242,5000	398,7500	282,7500
3	497,5000	432,0000	350,5000	327,0000	401,7500
4	522,7500	514,2500	553,2500	468,7500	514,7500
5	664,5000	541,0000	765,2500	600,5000	642,8125
6	702,7500	723,5000	846,0000	709,7500	745,5000
7	974,0000	833,0000	791,0000	940,0000	884,5000
8	1500,7500	1110,7500	1334,0000	1321,0000	1316,6250
9	1367,5000	1308,0000	1043,0000	1134,0000	1213,1250
10	1087,0000	788,0000	753,7500	1007,5000	909,0625
11	767,2500	372,2500	265,7500	654,0000	514,8125
12	370,0000	73,0000	105,2500	287,0000	208,8125

2. Perlakuan B (0,25 gram)

Hari ke-	Ulangan ($\times 10^4$ sel/ml)				Rata-rata
	1	2	3	4	
1	118,0000	167,7500	64,7500	139,5000	122,5000
2	298,0000	357,5000	240,0000	378,7500	318,5625
3	382,2500	582,7500	399,2500	440,7500	451,2500
4	588,0000	612,0000	469,2500	527,2500	549,1250
5	639,2500	707,2500	517,0000	658,7500	630,5625
6	765,5000	952,7500	743,0000	702,0000	790,8125
7	1040,0000	1070,2500	959,7500	880,5000	987,6250
8	1403,7500	1657,0000	1071,0000	1366,7500	1374,6250
9	2404,0000	1006,0000	569,5000	1319,0000	1324,6250
10	1316,0000	972,5000	281,7500	660,7500	807,7500
11	852,5000	502,2500	59,5000	220,5000	408,6875
12	368,0000	188,2500	0,0000	150,0000	176,5625

3. Perlakuan C (0,5 gram)

Hari ke-	Ulangan ($\times 10^4$ sel/ml)				Rata-rata
	1	2	3	4	
1	150,2500	176,5000	70,7500	125,5000	130,7500
2	203,0000	366,2500	241,2500	359,7500	292,5625
3	487,0000	520,0000	393,2500	552,7500	488,2500
4	557,7500	650,0000	543,7500	1003,5000	688,7500
5	996,0000	610,5000	673,7500	1753,2500	1000,8750
6	1345,0000	1105,0000	925,2500	1653,0000	1257,0625
7	2209,2500	1302,7500	1140,7500	2502,2500	1788,7500
8	1239,5000	1177,0000	1693,0000	1735,0000	1461,1250
9	911,0000	700,7500	1072,0000	1124,5000	952,0625
10	872,7500	437,7500	759,2500	940,7500	752,6250
11	646,0000	227,2500	533,2500	794,7500	550,3125
12	357,0000	66,2500	102,0000	516,7500	260,5000

4. Perlakuan D (0,75 gram)

Hari ke-	Ulangan ($\times 10^4$ sel/ml)				Rata-rata
	1	2	3	4	
1	100,5000	153,0000	196,7500	101,7500	138,0000
2	285,2500	318,7500	330,7500	291,0000	306,4375
3	466,2500	547,2500	437,2500	496,7500	486,8750
4	616,2500	685,7500	542,0000	557,0000	600,2500
5	966,7500	852,0000	962,7500	879,2500	915,1875
6	1551,0000	985,5000	1210,2500	1146,7500	1223,3750
7	2544,0000	1513,0000	1870,0000	1409,0000	1834,0000
8	1145,0000	1573,7500	1003,7500	2328,0000	1512,6250
9	962,2500	946,0000	773,0000	773,0000	863,5625
10	771,0000	621,7500	567,2500	536,0000	624,0000
11	582,0000	503,2500	288,7500	327,7500	425,4375
12	346,5000	366,7500	68,7500	107,2500	222,3125

5. Perlakuan E (1 gram)

Hari ke-	Ulangan ($\times 10^4$ sel/ml)				Rata-rata
	1	2	3	4	
1	188,0000	199,2500	195,0000	102,5000	171,1875
2	439,2500	484,0000	308,2500	259,0000	372,6250
3	552,0000	643,5000	485,0000	510,0000	547,6250
4	619,7500	842,7500	557,2500	838,0000	714,4375
5	798,0000	840,5000	632,2500	930,5000	800,3125
6	819,0000	932,2500	783,5000	1900,2500	1108,7500
7	1448,0000	1404,2500	1330,0000	2131,0000	1578,3125
8	1506,0000	1040,7500	840,7500	1649,0000	1259,1250
9	888,0000	882,7500	876,0000	940,0000	896,6875
10	534,2500	772,0000	640,2500	790,5000	684,2500
11	423,2500	269,0000	385,2500	558,7500	409,0625
12	327,0000	110,5000	232,2500	321,7500	242,8750

Lampiran 3. Data Rata-Rata Kualitas Air**1. Suhu**

Hari ke-	Perlakuan ($^{\circ}\text{C}$)									
	A		B		C		D		E	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	30,2	31,3	29,7	29,8	30,0	31,4	30,1	30,2	29,9	30,8
2	29,7	30,2	30,1	30,5	29,8	29,8	29,5	29,7	29,7	29,9
3	30,1	31,0	29,9	30,0	30,6	31,6	30,8	31,6	30,6	31,3
4	29,7	30,2	30,1	29,8	29,8	29,9	29,7	29,8	29,8	29,9
5	29,9	29,4	30,4	31,4	30,4	30,7	30,5	30,8	30,2	30,3
6	30,0	29,9	30,8	30,5	29,7	30,3	29,6	30,2	29,7	29,9
7	29,8	30,6	29,4	30,7	30,6	30,9	29,8	29,8	30,1	30,8
8	28,9	29,7	28,8	29,4	29,5	29,6	29,5	29,9	28,9	30,4
9	29,7	29,8	29,9	30,5	29,9	30,0	30,0	30,5	29,9	30,3
10	30,5	29,7	30,6	31,5	30,0	31,0	30,7	30,8	29,9	29,9
11	30,6	30,8	29,2	29,8	28,9	29,7	28,8	29,5	29,4	29,9
12	31,1	30,6	30,0	29,9	29,7	29,8	29,6	30,0	30,2	31,2

2. Dissolved Oxygen (DO)

Hari ke-	Perlakuan (mg/L)									
	A		B		C		D		E	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	5,8	5,0	6,5	6,0	6,0	5,0	6,1	6,0	6,2	5,7
2	5,9	5,7	5,8	5,6	6,3	5,9	7,0	6,8	6,5	6,4
3	5,9	5,3	6,8	6,1	5,7	4,9	5,6	4,9	5,7	5,0
4	6,7	5,9	5,8	6,0	6,6	5,9	6,5	6,3	6,8	6,8
5	6,5	6,7	6,1	5,0	5,8	5,7	5,8	5,6	5,8	5,7
6	5,8	5,9	5,7	5,7	6,5	6,1	6,7	5,8	6,8	6,1
7	6,9	5,6	6,9	5,8	5,8	5,9	6,6	6,5	5,9	5,8
8	7,1	6,6	7,2	6,6	6,8	6,6	6,9	6,3	7,1	6,2
9	6,6	6,6	6,5	5,6	5,9	5,9	6,2	5,9	6,2	5,7
10	5,7	6,5	5,9	4,9	6,0	6,0	5,8	5,5	6,5	6,4
11	5,8	5,6	7,0	5,9	7,2	6,4	7,2	6,9	7,0	6,7
12	5,2	5,9	6,2	6,0	6,9	6,8	6,9	6,8	5,9	5,2

3. pH

Hari ke-	Perlakuan									
	A		B		C		D		E	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	8,2	8,5	8,0	8,4	8,4	8,6	8,5	8,5	8,4	8,5
2	8,7	8,8	8,6	8,6	8,6	8,9	8,7	8,8	8,7	8,8
3	8,9	8,9	8,6	8,7	8,8	9,0	8,9	8,9	8,9	8,9
4	8,9	8,9	8,8	8,9	8,9	8,9	9,0	9,0	8,9	8,8
5	8,9	9,0	8,8	8,8	8,9	9,0	8,9	8,9	8,8	8,9
6	8,9	8,9	8,9	8,8	8,9	8,9	8,9	9,0	8,7	8,9
7	9,0	9,0	8,9	8,9	8,9	9,0	8,9	9,0	9,0	9,0
8	8,6	8,9	8,6	8,8	8,7	9,1	8,6	8,7	8,8	9,1
9	8,7	8,7	8,9	8,9	9,0	9,1	8,6	8,7	8,7	8,7
10	8,6	8,6	8,9	8,9	8,9	8,9	8,5	8,6	8,8	8,9
11	7,9	8,3	8,2	8,5	8,5	8,7	8,4	8,7	8,6	8,7
12	8,5	8,6	8,5	8,7	8,6	8,8	8,3	8,6	8,7	8,7

4. Salinitas

Hari ke-	Perlakuan (ppt)									
	A		B		C		D		E	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	24,25	24,00	25,25	25,00	25,75	24,50	25,00	25,25	25,75	25,25
2	24,75	23,50	26,00	25,00	26,00	24,25	26,00	25,00	26,25	24,75
3	25,75	24,50	27,00	25,75	26,25	25,25	26,75	25,50	27,50	26,00
4	24,75	25,00	26,75	26,75	25,25	25,75	26,25	25,75	26,25	26,25
5	26,00	25,75	28,25	26,75	27,50	26,50	27,00	26,75	27,50	26,75
6	26,00	24,75	28,00	26,5	28,00	26,25	27,50	26,50	28,50	26,50
7	26,25	25,75	29,25	26,75	27,50	27,25	28,25	27,75	27,50	27,25
8	25,50	26,50	27,00	25,75	25,75	27,00	27,50	27,25	26,25	29,75
9	27,25	26,75	29,75	28,75	28,25	27,50	28,25	27,75	29,25	28,75
10	27,75	27,00	30,25	29,25	29,00	28,75	29,25	28,25	29,75	27,75
11	26,25	26,50	28,25	28,75	27,25	28,25	26,00	27,25	25,75	26,00
12	25,25	25,75	27,75	28,25	26,00	27,25	25,25	26,75	26,00	26,25

Lampiran 4. Analisa Anava Kandungan Lutein *Botryococcus braunii***Anova****Hari ke-2**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,00000017	4	,00000004	6,04714174	,004
Within Groups	,00000011	15	,00000001		
Total	,00000028	19			

Uji Jarak Duncan**Hari ke-2**

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	4	,00048450		
B	4	,00058900	,00058900	
E	4		,00063725	,00063725
C	4		,00065925	,00065925
D	4			,00077075
Sig.		,102	,284	,051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ANOVA**Hari ke-4**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,00000070	4	,00000017	9,13266878	,001
Within Groups	,00000029	15	,00000002		
Total	,00000098	19			

Uji Jarak Duncan**Hari ke-4**

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A	4	,00068075	
B	4	,00086075	
D	4		,00111700
C	4		,00111975
E	4		,00115925
Sig.		,085	,688

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ANOVA**Hari ke-6**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,00000233	4	,00000058	2,53385843	,084
Within Groups	,00000345	15	,00000023		
Total	,00000579	19			

ANOVA**Hari ke-8**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,00000262	4	,00000066	5,20820553	,008
Within Groups	,00000189	15	,00000013		
Total	,00000451	19			

Uji Jarak Duncan**Hari ke-8**

perlakuan	N	Subset for alpha = 0,05	
		1	2
A	4	,00141000	
E	4	,00159000	
B	4	,00165600	
D	4		,00223750
C	4		,00230575
Sig.		,368	,789

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ANOVA**Hari ke-10**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,00000143	4	,00000036	2,26512661	,111
Within Groups	,00000237	15	,00000016		
Total	,00000380	19			

ANOVA**Hari ke-12**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,00000026	4	,00000006	1,67877201	,207
Within Groups	,00000057	15	,00000004		
Total	,00000083	19			

Lampiran 5. Analisa Anava Populasi *Botryococcus braunii***ANOVA****Hari ke-1**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11961,456	4	2990,364	1,657	,212
Within Groups	27072,844	15	1804,856		
Total	39034,300	19			

ANOVA**Hari ke-2**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19797,206	4	4949,302	,851	,515
Within Groups	87272,578	15	5818,172		
Total	107069,784	19			

ANOVA**Hari ke-3**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	46081,925	4	11520,481	2,200	,118
Within Groups	78539,000	15	5235,933		
Total	124620,925	19			

ANOVA**Hari ke-4**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	113946,050	4	28486,513	1,825	,177
Within Groups	234130,984	15	15608,732		
Total	348077,034	19			

ANOVA**Hari ke-5**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	440415,450	4	110103,863	1,777	,186
Within Groups	929554,375	15	61970,292		
Total	1369969,825	19			

ANOVA**Hari ke-6**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	932734,769	4	233183,692	2,561	,082
Within Groups	1365783,531	15	91052,235		
Total	2298518,300	19			

ANOVA**Hari ke-7**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3224000,075	4	806000,019	4,668	,012
Within Groups	2589773,984	15	172651,599		
Total	5813774,059	19			

Uji Jarak Duncan**Hari ke-7**

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	4	884,5000		
B	4	987,6250	987,6250	
E	4		1578,3125	1578,3125
C	4			1788,7500
D	4			1834,0000
Sig.		,730	,063	,423

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

ANOVA**Hari ke-8**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	170841,200	4	42710,300	,319	,861
Within Groups	2006409,438	15	133760,629		
Total	2177250,638	19			

ANOVA**Hari ke-9**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	679536,294	4	169884,073	1,243	,335
Within Groups	2049329,641	15	136621,976		
Total	2728865,934	19			

ANOVA**Hari ke-10**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	194754,300	4	48688,575	,822	,531
Within Groups	888890,359	15	59259,357		
Total	1083644,659	19			

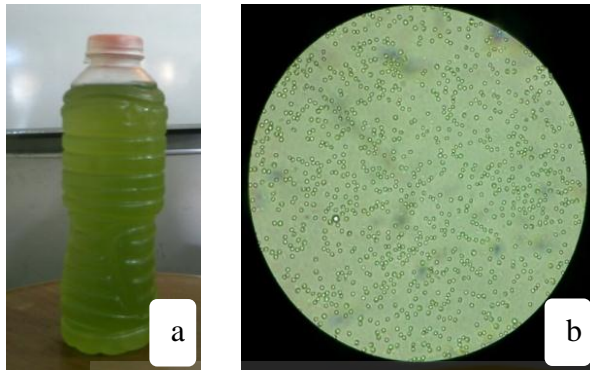
ANOVA**Hari ke-11**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	70276,425	4	17569,106	,328	,855
Within Groups	803675,359	15	53578,357		
Total	873951,784	19			

ANOVA**Hari ke-12**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17531,956	4	4382,989	,177	,947
Within Groups	371701,203	15	24780,080		
Total	389233,159	19			

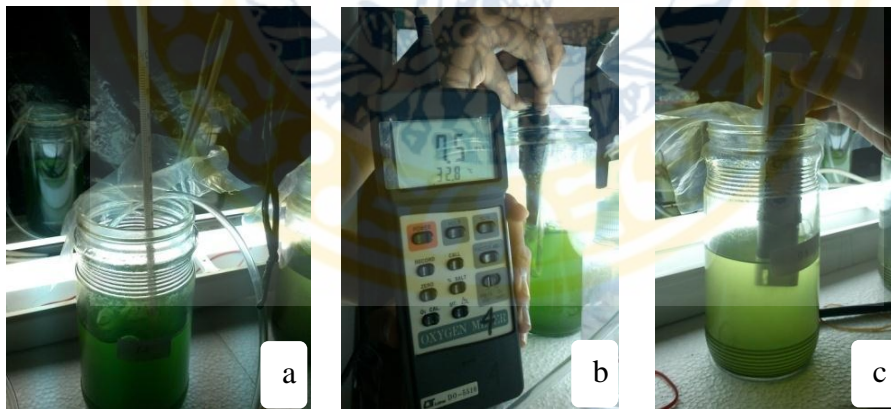
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. a). Bibit *Botryococcus braunii* b). *Botryococcus braunii* 400x



Gambar 2. a). Rak Kultur Plankton Penelitian b). *Haemocytometer*

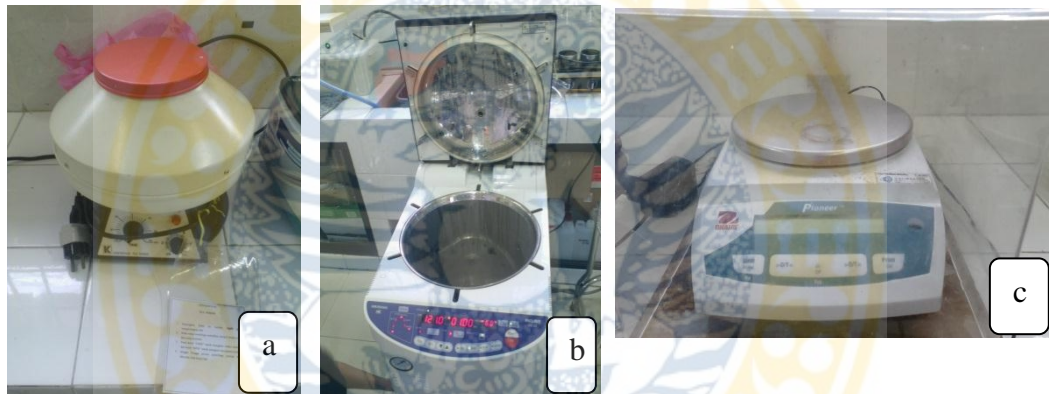


Gambar 3. Pengukuran Kualitas Air. a). Pengukuran Suhu Dengan Termometer. b). Pengukuran *Dissolved Oxygen* (DO). c). Pengukuran pH dengan pH pen.

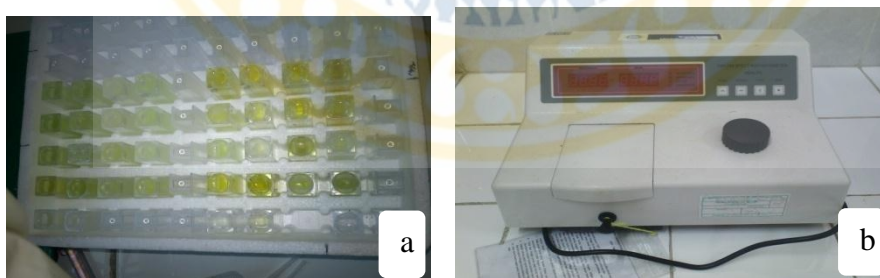
Lampiran 6.(Lanjutan)



Gambar 4. a). Sampel yang divortek b). Water bath



Gambar 5. a). Sentrifuge b). Autoclave c). Timbangan Analitik



Gambar 6. a). Sampel dalam Kuvet. b). Spektrofotometer